



TITLE:

ヘテロ接合型植物を用いた体細胞
突然変異の放射線遺伝学的研究(
Dissertation_全文)

AUTHOR(S):

伊藤, 哲夫

CITATION:

伊藤, 哲夫. ヘテロ接合型植物を用いた体細胞突然変異の放射線遺伝学的研究. 京都大学, 1993, 博士(農学)

ISSUE DATE:

1993-03-23

URL:

<https://doi.org/10.11501/3066355>

RIGHT:

新 制
農
651

京大附図

ヘテロ接合型植物を用いた
体細胞突然変異の
放射線遺伝学的研究

伊 藤 哲 夫

ヘテロ接合型植物を用いた
体細胞突然変異の
放射線遺伝学的研究

伊藤哲夫

目 次

	頁
緒 論	1
第 I 章 <i>yellow</i> 遺伝子 (y_{II}) をもつダイズの葉色突然変異の放射線遺伝学的研究	4
第 1 節 序 論	4
第 2 節 ダイズの y_{II} に関するヘテロ接合自殖系統	6
(1) 実験材料と遺伝学的特性	6
(2) 生理・発生学的特徴	8
a. 吸水による種子の重量の経時変化	8
b. ホモ ($y_{II}y_{II}$, $Y_{II}Y_{II}$) とヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の単葉における柵状組織の細胞内葉緑体の比較	8
c. ヘテロ接合型実生における単葉と第 1, 第 2 本葉の発 生時期と成長速度	9
d. ヘテロ接合体における単葉と本葉の面積の経日変化	12
(3) 考 察	13
第 3 節 ダイズのホモ ($y_{II}y_{II}$) およびヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体における葉色変異斑の放射線誘発機構	15
(1) 実験方法	15
a. 照射と育苗	15
b. 葉色変異斑の分類	19
(2) 実験結果	20
a. 中性子の吸収線量	20
b. ダイズのホモならびにヘテロ接合型乾燥種子を X 線 または中性子で照射した場合の葉色突然変異斑頻度 と線量の関係	24
c. X 線と中性子による葉色変異斑誘発率の比較	25

(3) 考 察	3 0
第4節 ダイズのホモ ($y_{II}y_{II}$) ならびにヘテロ ($Y_{II}y_{II}$)	
接合型吸水種子のX線と中性子に対する突然変異高感受性	3 2
(1) 実験方法	3 2
(2) 実験結果	3 3
a. 中性子の吸収線量	3 3
b. ダイズのホモならびにヘテロ接合型吸水種子をX線または 中性子で照射したときの葉色変異斑頻度と線量の関係	3 4
c. ダイズのホモならびにヘテロ接合型の乾燥種子と吸水 種子の放射線に対する変異感受性の比較	3 6
d. ダイズのホモならびにヘテロ接合型吸水種子照射に おけるX線と中性子の突然変異斑誘発率の比較	3 9
(3) 考 察	3 9
第5節 ヘテロ接合型ダイズの照射時の苗令によるX線誘発変異	
斑の形態の変化と葉原基の分化段階	4 1
(1) 実験方法	4 1
(2) 実験結果	4 3
a. 照射時の苗令による葉色変異斑頻度の変化	4 3
b. 照射時の苗令による変異斑サイズの変化	4 5
c. 誘発変異斑の頻度とサイズの関係	4 7
d. ヘテロ接合型ダイズに出現した3種の葉色変異斑の 形態とその出現割合の照射時期依存性	4 7
(3) 考 察	5 0
a. ヘテロ接合型ダイズに出現した葉色変異斑形態の放射 線照射時期依存性から推定される葉脈の形成時期	5 0
b. 葉原基の始原期照射による超大型変異クローンの誘発 とその意義	5 2
c. ダイズとタバコにおける葉原基の分化・発生過程の比較	5 2

第6節 結 論	55
---------	----

第2章 ダイズ、エンバク、イエギクにおける体細胞突然変異の

放射線誘発特性の比較	58
------------	----

第1節 序 論	58
---------	----

第2節 エンバクのアルビノ変異遺伝子 *al*/ヘテロ接合体に

おけるアルビノ突然変異斑の放射線誘発	60
--------------------	----

(1) 材 料	57
---------	----

(2) 実験方法	62
----------	----

a. 照射, 播種, 栽培	62
---------------	----

b. 変異斑の頻度とサイズの測定法	63
-------------------	----

(3) 実験結果	64
----------	----

a. エンバクにおけるX線と中性子によるアルビノ変異	
----------------------------	--

斑頻度の増加と線量の関係	64
--------------	----

b. X線と中性子のアルビノ変異斑誘発率の比較	65
-------------------------	----

c. 放射線誘発アルビノ変異斑の発生頻度の葉位間の比較	66
-----------------------------	----

d. 放射線誘発アルビノ変異斑のサイズの葉位間の比較	66
----------------------------	----

第3節 イエギクの花色突然変異	70
-----------------	----

(1) 材 料	70
---------	----

(2) 実験方法	70
----------	----

a. 照射, 挿し穂, 栽培	70
----------------	----

b. 観 察	72
--------	----

(3) 実験結果	73
----------	----

a. 花色突然変異の変異斑のサイズ分布	73
---------------------	----

b. 花色変異斑の頻度とX線または中性子の線量の関係	73
----------------------------	----

c. X線と中性子の突然変異斑誘発率の比較	75
-----------------------	----

第4節 考 察	76
---------	----

(1) ダイズ, エンバク, イエギクにおけるX線による	
------------------------------	--

変異斑誘発率 b_x の比較	7 6
(2) ダイズ, エンバク, イエギクの放射線誘発変異斑 サイズの比較	7 8
(3) ダイズ, エンバク, イエギクにおける放射線誘発 変異斑の分布形態の葉位または枝位間の比較	8 3
(4) ダイズ, エンバク, イエギクの体細胞における X 線 変異感受性の遺伝子レベルでの比較	8 5
総 括	8 9
謝 辞	9 4
引用文献	9 5

結 論

L. J. Stadler (1929) は, H. J. Muller のショウジョウバエを用いた X 線による突然変異誘発の発見から 2 年後, エンバクとコムギの乾燥種子に放射線を照射すると, 継代遺伝性の葉緑素突然変異が多発することを詳細に発表している. それによると, 例えば, 2 倍体コムギの X 線単位線量 (1 R) あたりの突然変異誘発率は 1×10^{-8} となっている. さらに, Stadler (1930) は, 「照射時のオオムギ胚ではそれぞれの分けつ原基が分化を完了しているから, 照射で変異が 1 つの原基に起こると, 1 つの稈だけが変化し, 多分けつ植物では, 2 次分けつがそれ以前の分けつから発達するので, 同一の変異が両者に観察されるだろう」と述べている. この Stadler の指摘に触発されて, オオムギやイネなどの種子を放射線で処理し, 1, 2 世代後に発生する突然変異 (おもに葉緑素変異) の分布から, 照射当時の標的原基が 1 個か複数個か, または未分化であるか, を解析する研究が国内外で盛んにおこなわれた (松尾・山口, 1964 参照).

放射線の植物体への作用機構に興味をもつ研究者たちは, (1) 乾燥種子よりも吸水種子のほうが, 放射線感受性が高いこと, (2) 種子のみならず植物体も, X 線やガンマ線に比べ, 中性子に対し高い反応を示すことを, 多種多様な植物種で観察した (松村, 1964; 松尾・山口, 1964). 例えば, MacKey (1958) は, オオムギやコムギの乾燥種子の照射で誘発される継代遺伝性の葉緑素突然変異に関しては, 中性子が X 線より約 60 倍高い変異誘発率 (単位線量当りの誘発変異率) を示すと発表した. 吸水種子は, 乾燥種子より, X 線による生理的傷害 (発芽率, 芽成長速度などで測定) の感受性が数倍高い (数分の 1 の線量で同程度の傷害が起こること). 中性子照射の場合は, 吸水による種子の感受性増加は X 線の場合ほど顕著ではない (松村, 1964;

松尾・山口，1964参照）。

以上の古典放射線遺伝学的研究は，アルビノ遺伝子 a_1 に関するヘテロ接合体の自殖系が西山（1936）によって分離されて，これを用いた体細胞突然変異の放射線遺伝学的研究へ発展した。この研究方法では，種子を照射して播種し，数週間後に成長する葉について，体細胞変異として発生する白縞のアルビノ斑を調査すればよい。従って，実験に要する時間と植物個体数を格段に節約できる。この系を用いて，西山，市川，生島，天野らは，「継代遺伝性突然変異に関して放射線遺伝学的手法で確立されていた事実」の大部分が，体細胞突然変異でも成り立つことを発表した（Nishiyama et al., 1964, 1966）。

本研究でも，西山の分離したエンバク系統を使用して，彼らの成果の一部については，追試し確認した。しかし，このエンバク系統は，放射線感受性が低く実験材料としては使いにくい。そこで，ダイズの系統で，葉緑素生産を半優性的に抑制する遺伝子 y_{11} に関してヘテロ（ $Y_{11}y_{11}$ ）接合型の種子を用いる「体細胞突然変異の放射線遺伝学的研究」を本論文の中心においた。このダイズ種子は，中程度のX線量（200～500 R）の照射で，播種後わずか3週間で展開する葉に多数の変異斑を発生する。

なぜダイズの方がエンバクよりX線感受性が高いのか。すなわち，このような植物種間のX線感受性の差の原因は何であるかを研究するため，イエギクの挿し穂を材料に選んだ。これは，ダイズとエンバクの中間のX線感受性を示し，1000 R照射で花色変異が多発した。

以上の3者のX線感受性を，遺伝子レベルで比較するためには，見かけ上の変異斑頻度（[変異斑を持つ個体または器官の数] / [観察した総数]）を真の変異頻度（標的遺伝子座あたりの変異頻度）に換算しなければならない。この換算には，変異斑の相対サイズ（[変異斑の大きさ，または変異した花の数] / [葉の大きさ，または花の総数]）の正確な測定が必要である。本研究

では、このような測定に基づいて、真の突然変異誘発率を求め、3者間で比較した。さらに、継代遺伝性変異の場合にStadler (1929) が得た突然変異誘発率（冒頭に紹介）と比較し、総合的に3者のX線感受性を考察した。

本論文のもう1つの柱は、Stadler (1930) が予言したところの「種子内の原基の分化程度を、X線照射で原基内に変異を発生させ、原基が成長したあと、その成長組織に出現する変異斑の形態を手がかりにして、知ることができる」という考えを、ダイズの場合に適用した研究である。彼の予言のとおり、ダイズ種子および播種後1～7日令の実生に中性子またはX線を照射すると、あとで成長した葉に、照射時期の違いにより、劇的に異なる形態の変異斑が発生した。その解析から、休眠種子内の第1本葉の原基では、主脈原基は分化を完了しており、側脈や2次脈の原基は分化初期段階にあることがわかった (Itoh and Kondo, 1992)。

乾燥種子照射の場合には、欠失突然変異は、中性子のほうがX線よりも桁違いに高頻度で発生することが知られている (松村, 1964; 松尾・山口, 1964)。そこで、本研究で用いた3種の材料の照射でも、中性子とX線を併用して実験をおこない、体細胞突然変異の放射線誘発機構を考える上で貴重な結果を得た。それによると、前述のダイズの半優性突然変異遺伝子 y_{11} はトランスポゾンの侵入により出現した可能性が強いことが示唆された (Itoh and Kondo, 1991)。

本研究は、放射線による植物の体細胞突然変異の誘発実験より、第1章では放射線を利用してダイズの葉色変異斑の生成機構に関しての提唱と放射線で生じるダイズの葉色変異斑の形態に基づく葉原基の分化段階の推定を、第2章ではダイズ、エンバク、イエギクの3者のX線感受性を遺伝子レベルで比較し、変異感受性が植物種間で、また植物の分化段階でどのように関係するかを論述した。

第 I 章 *yellow* 遺伝子 (y_{II}) をもつダイズの葉色突然変異の放射線 遺伝学的研究

第 1 節 序 論

ダイズ *Glycine max* (L.) Merrill の葉緑素の生産を抑制する半優性突然変異遺伝子 y_{II} とその野生型対立遺伝子 Y_{II} をヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合でもつ自殖系統 (T 2 1 9 系統) は、発見当初、遺伝学の好個の材料として注目された (Weber and Weiss, 1959)。これは、自殖で得た種子を蒔くと、濃緑色個体 ($Y_{II}Y_{II}$)、淡緑色個体 ($Y_{II}y_{II}$)、黄色個体 ($y_{II}y_{II}$) が約 1 : 2 : 1 の比で分離するからである。

ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の単葉上には、しばしば黄色斑 ($y_{II}y_{II}$ 個体の葉色に類似) と濃緑色斑 ($Y_{II}Y_{II}$ 個体の葉色に類似) が現れる。劣性ホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合体の単葉には、淡緑色斑 ($Y_{II}y_{II}$ 個体の葉色に類似) が現れる (Weber and Weiss, 1959; Vig and Paddock, 1968; Vig, 1973a, 1974)。これらの変異斑の頻度は、種子を放射線または化学変異原で処理すると、著増することが知られていて、環境変異原テスト系としてその有用性が報告されている (Vig, 1973b, 1973c, 1975; Fujii, 1981, 1982; Fujii et al., 1983)。

変異斑の誘発機構に関しては、Vig and Paddock (1968)、Vig (1974)、Vig et al. (1976) の研究がある。彼らは、ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の葉に発生する濃緑色変異斑とホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合体の葉に発生する淡緑色変異斑は、 y_{II} 遺伝子から Y_{II} 野生型対立遺伝子への復帰は点突然変異によるが、ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の葉に発生する黄色変異斑は、 Y_{II} 遺伝子の欠失突然変異によると提唱している。

本研究の第 1 の目的は、放射線を利用して葉色変異斑の発生機構を調べることである。この目的にそって、X 線と中性子の 2 種類を用いた。なぜなら、

中性子は植物の遺伝子の欠失変異をX線よりも大変高い効率で誘発することが知られているからである (Kondo, 1964; Ikushima, 1972) . 即ち, X線と中性子の誘発効率の違いから葉色変異斑の発生機構に関して, 有力な手がかりが得られることが期待されるからである. 実験にあたって, 乾燥種子にX線と速中性子を照射し, 播種後に葉の展開するのを待って, ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合体については単葉と第1本葉に, ホモ ($y_{11}y_{11}$) 接合体については単葉に発生する葉色変異斑を詳細に調べた.

第2の目的は, 放射線で生じる葉色変異斑の形態を手がかりにして, 照射時のダイズの葉原基の分化段階を推定することである. ショウジョウバエでは, X線照射で誘発される変異斑を手がかりにして, 翅などの原基の分化機構の解析が飛躍的に進歩した (Garcia-Bellido et al., 1973; Alberts et al., 1989) . これにならってダイズの種子とそれを蒔いた後, 異なった時期に放射線を照射し, そのあとで葉に出現する変異斑の数と形態を調べた. この変異斑の形態の変化をもとにして, 各葉原基における主脈, 側脈, 2次脈の原基が, 種子内または播種後何日目形成されているかを推定することを試みた.

上記の2つの目的を達成するための準備として, まず, ダイズT219系統の遺伝学的特性を明らかにし, ついで, 吸水による種子重量の経時的变化と播種後の葉の成長等の生理・発生学的特性を調べた.

第2節 ダイズの y_{11} に関するヘテロ接合自殖系統

(1) 実験材料と遺伝学的特性

本研究で用いた y_{11} に関するヘテロ接合自殖系統のダイズ *Glycine max* (L.) Merrill の T 2 1 9 系統は、Nevada 大学の B. K. Vig 教授から国立遺伝学研究所の故藤井太郎博士が譲り受け、系統維持されていたものを、Vig 教授の許可を得た上で、故藤井太郎博士から分与してもらったものである。

この系統は、葉緑素の生成を抑制する半優性突然変異遺伝子 y_{11} とその対立遺伝子 Y_{11} のヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型である。このヘテロ接合体からの自殖で得られた種子を播種すると、 $Y_{11}Y_{11}$ (濃緑色)、 $Y_{11}y_{11}$ (淡緑色)、 $y_{11}y_{11}$ (黄色) の植物が 1 : 2 : 1 の比に分離することが期待される (図 1)。

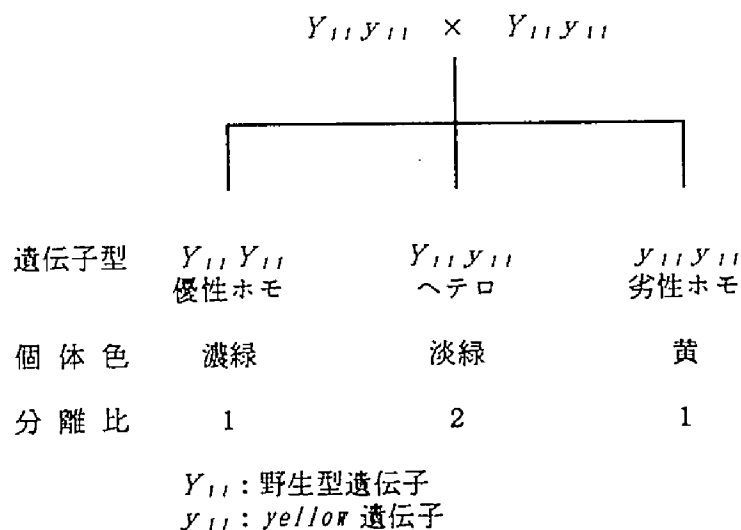


図 1. ダイズ T 2 1 9 系統の自殖次代における 3 種葉色個体の分離。

図 2 は、このヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型植物の自殖によって得られた種子を播種して 7 日目の単葉が展開したときの写真である。合計 5 回の播種実験に

おける濃緑色，淡緑色および黄色植物の観察数は，287：589：296となり（表1），期待される分離比293：586：293と有意差を示さなかった（ $\chi^2 = 0.169$ ， $df = 2$ で $p > 0.1$ ）。

表1. ダイズのヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合体の自殖次代における3種表現型の分離

実 験	播種数	発芽個体数			合計
		濃緑色 ($Y_{II}Y_{II}$)	淡緑色 ($Y_{II}y_{II}$)	黄色 ($y_{II}y_{II}$)	
1	240	51	118	60	229
2	240	63	113	48	224
3	240	52	114	58	224
4	120	30	55	33	118
5	400	91	189	97	377
合計	1240	287	589	296	1172
期待値（1：2：1）		293	586	293	

注）期待値との適合に関する χ^2 検定の結果： $\chi^2 = 0.169$ ， $df = 2$ で $p > 0.1$ 。



図2. ダイズ系統T219の自殖次代における3種の葉色個体の分離。
濃緑色，淡緑色および黄色個体はそれぞれ遺伝子型 $Y_{II}Y_{II}$ ， $Y_{II}y_{II}$ ， $y_{II}y_{II}$ をもつ。

(2) 生理・発生学的特徴

a. 吸水による種子の重量の経時変化

4℃の冷蔵庫でシリカゲルを入れたタッパー内に保存しておいた乾燥種子（平均重量0.18 g/粒）を2～3日室温に置いた後、25℃の蒸留水に浸して、時間の経過に伴う種子の重量増加を測定した。種子は、 y_{II} に関するヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合自殖次代から得られたもので、ヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）とホモ（ $Y_{II}Y_{II}$ 、 $y_{II}y_{II}$ ）接合型種子の区別なしに用いた。図3に種子の吸水時間と重量の増加率の関係を示す。乾燥種子を水に浸して6時間後に種子重量が約110%に増加し、その後は徐々に増加して、22時間後には130%に達した。

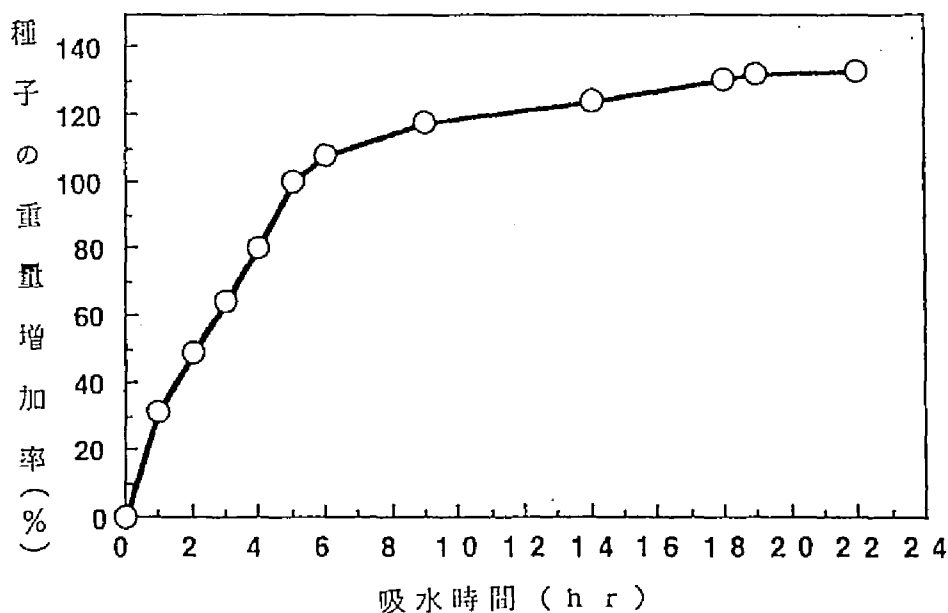


図3. ダイズ乾燥種子の吸水による重量の経時変化.

b. ホモ（ $y_{II}y_{II}$ 、 $Y_{II}Y_{II}$ ）とヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合体の単葉 における柵状組織の細胞内葉緑体の比較

ダイズの葉色（濃緑色，淡緑色および黄色）の異なるホモ（ $Y_{II}Y_{II}$ ， $Y_{II}Y_{II}$ ）とヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合体の単葉における柵状組織の細胞内葉緑体の状態を明らかにするため，それぞれの葉の断面とその柵状組織の細胞を観察した。

図4の上図は，葉の断面を顕微鏡で観察したスケッチである．ダイズの単葉は，厚さが約170 μ mで，表皮と柵状組織と海綿状組織よりできている。

図4の下図は，葉色の異なる3種（濃緑色，淡緑色および黄色）の植物体の柵状組織の細胞を拡大したものである．この3种植物体の細胞を比較すると，濃緑色個体の細胞では葉緑体が最も密に存在し，各葉緑体は最も濃い緑色を呈していた．淡緑色個体の細胞では，個々の葉緑体の緑が薄くなっていた．黄色個体の細胞では，緑色をわずかに帯びた葉緑体とほぼ透明なものが観察できた．なお葉緑体の数については観察していない。

c. ヘテロ接合型実生における単葉と第1，第2本葉の発生時期 と成長速度

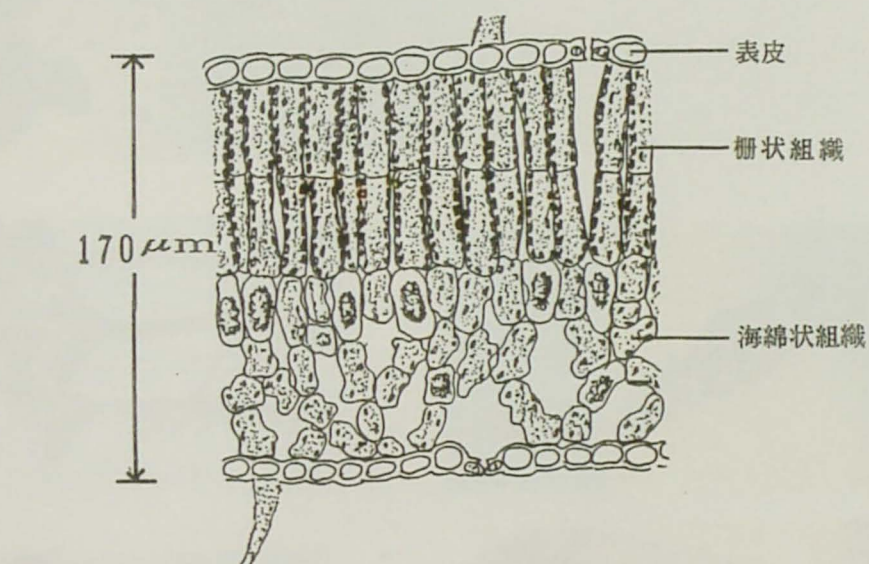
ダイズ種子播種後のヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合型実生における単葉と本葉の発生時期と成長の経日変化を図5に示した．この図に従って成長過程の観察結果を説明する．

播種後1日目：幼根が約5 mmまで伸長した．

3日目：子葉が地上に現れ，2枚の子葉の間に約5 mm程に成長した単葉が見られた．

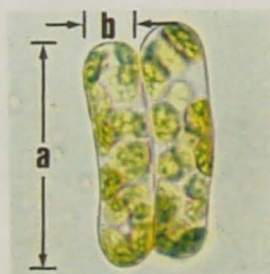
7日目：単葉2枚が展開し始め，単葉を取り去って成長点を実体顕微鏡で見ると3～4 mmに成長した第1本葉が見られた．

3週間目：第1本葉，第2本葉は完全に展開し，第3本葉が展開し始めた．



a: 50 μm

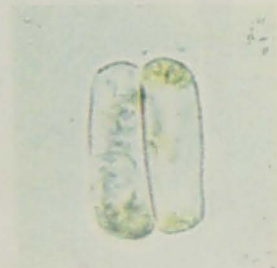
b: 13 μm



濃緑色個体



淡緑色個体



黄色個体

図4. ダイズ葉の断面と葉色を異にする3種個体の柵状組織細胞.
葉色と葉緑体の発達に明瞭な関係がみられる.

播種から1日目



播種から3日目



播種から7日目



播種から3週間目

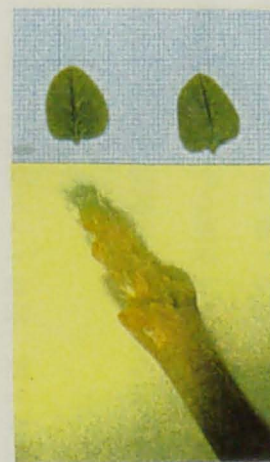
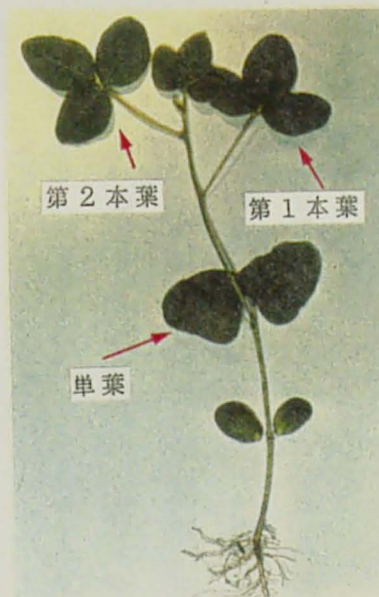


図5. ダイズ播種後の実生の単葉と本葉の発生と成長.

d. ヘテロ接合体における単葉と本葉の面積の経日変化

ヘテロ接合自殖系統のダイズ種子を冷蔵庫より取り出してシャーレに入れ、2～3日間、20℃～30℃の部屋に放置した。その後、畑土とバーミキュライトを7：3の割合で混ぜた混合土に合計100粒蒔いた。発芽した種子は第2本葉が十分に展開するまで20℃～30℃にコントロールされた温室中で栽培した。

葉の表面積は、単葉については播種後3日目以降、第1本葉と第2本葉については9日目以降、図6に示した各時点で5個体ずつ測定した。播種後7日目になると容易に葉の色の区別が出来るため7日目以降はヘテロ接合型植物の葉についてのみ測定した。

単葉の播種後3日目～6日目、第1本葉の9日目～11日目、第2本葉の

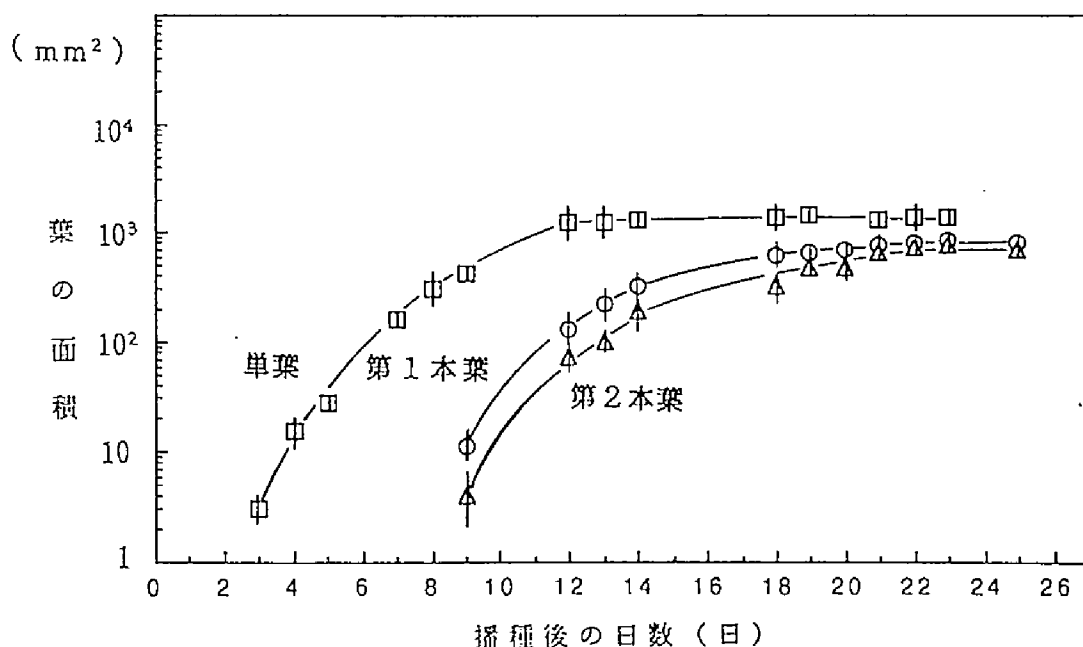


図6. 播種後ダイズの単葉と本葉の面積の日令変化。

9日目～12日目までの小さい葉（約100mm²以下）については、実体顕微鏡下でマイクロスケラーを用いて測定した。大きい葉の面積は、葉をコピーした後、プランメーター（プラス社製）で測定した。

図6には、播種後の日数に対する単葉、第1本葉および第2本葉の面積の成長平均値をプロットしている。この図から明らかなように、葉の成熟は、単葉では約12日目、第1本葉では約19日目、第2本葉では約21日目にほぼ完了した。

（3）考察

ヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合型植物の自殖によって得られた種子を播種した結果、濃緑色、淡緑色および黄色植物の分離比は、ほぼ1：2：1となったことから、 Y_{II} 、 y_{II} の2型の配偶子間にも、 $Y_{II}Y_{II}$ （濃緑色）、 $Y_{II}y_{II}$ （淡緑色）、 $y_{II}y_{II}$ （黄色）の3型の接合子間にも受精力や生存力に関し差異がないと判断した。この3種の植物体の単葉における柵状組織の細胞内の葉緑体を顕微鏡下で観察した結果、濃緑色個体の細胞では葉緑体が最も密に存在し、各葉緑体は最も濃い緑色を、淡緑色個体の細胞では個々の葉緑体の緑が薄く、黄色個体の細胞では緑色をわずかに帯びた葉緑体とほぼ透明なものが観察できた。この細胞の観察より、 y_{II} 遺伝子は、葉緑素の発現を抑制する半優性突然変異遺伝子であることを確認した。

Tatara et al. (1991) は、ダイズの乾燥休眠種子の茎頂細胞はG₀またはG₁期にあり、浸漬後22～24時間でDNA合成を、26～27時間後に細胞分裂を開始する、と報告している。ヘテロ接合型実生の単葉の成長の観察より、播種後1日目にはすでに幼根が約5mmまで伸長していたが、種子の茎頂細胞が分裂を開始していたかどうかは確認できなかった。ヘテロ（ $Y_{II}y_{II}$ ）接合型実生の単葉、第1、第2本葉の面積の経日変化より、葉の成熟は単葉では約

12日目、第1本葉では約19日目、第2本葉では約21日目にほぼ完了することがわかったので、以後の実験において、ヘテロ接合体の葉上に出現する葉色変異斑の観察は単葉で播種後約13日目、第1、第2本葉で約23日目に観察することとした。

第3節 ダイズのホモ ($y_{II}y_{II}$) およびヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体 における葉色変異斑の放射線誘発機構

(1) 実験方法

a. 照射と育苗

この研究には、国立遺伝学研究所で収穫された種子を用いた。実験を始め
る2～3日前に冷蔵庫より取り出し、室温で乾燥状態に保持した種子を実験に
供した。

種子は直径6 cmのプラスチックシャーレに80粒入れ、X線、原子炉中
性子または14 MeV中性子を照射した。なお、本論文では特に限定しない
限り、原子炉中性子（速中性子；数十keV以上のエネルギーをもった中性子）
および14 MeV中性子を単に中性子と呼ぶことにする。また、Rは照射線量
レントゲン、radは吸収線量ラドを表す。

X線の照射

種子のX線照射は、京都大学放射線生物研究センターのX線発生装置（理
学電機社製）を電圧250 kVp、電流15 mAに設定して、1 mmアルミニ
ウムフィルターを用いて実施した。照射線量は、500 Rまたは750 Rとし
た。その時の照射線量率は105 R/分であった。線量率はビクトリン線量計
（Far West Tech. 社製）を用いて測定した。

原子炉中性子の照射

種子の原子炉中性子（速中性子）照射には、近畿大学原子力研究所の原子
炉（UTR-KINKI）を使用した。この原子炉は、熱出力1 W、軽水減速黒鉛反射非
均質型原子炉である（図7）。照射は、図7に示す生物照射場の中央に、図の

右に示す生物照射設備に試料を保持させたものを挿入して、実施した。原子炉生物照射場には、原子炉からの中性子とガンマ線が同時に存在する。

照射場の線量率は、対合電離箱（組織等価型電離箱と黒鉛電離箱の組み合わせ、Far West Tech. 社製）を用いて測定した（Hoshi et al., 1988; 安淵他, 1989）。また試料に暴露された中性子およびガンマ線の線量をプラスチック飛跡検出器 TS 16 N（ $5 \times 10 \times 2$ mm, 長瀬ランダウア社製）および酸化ベリリウム型熱蛍光線量計の UD-170 L 型素子（松下電機産業社製）を種子の入ったプラスチックシャーレに取り付けて測定し、照射毎の線量の変動の有無をモニターした。照射時間は 0.5 時間と 1 時間とした。

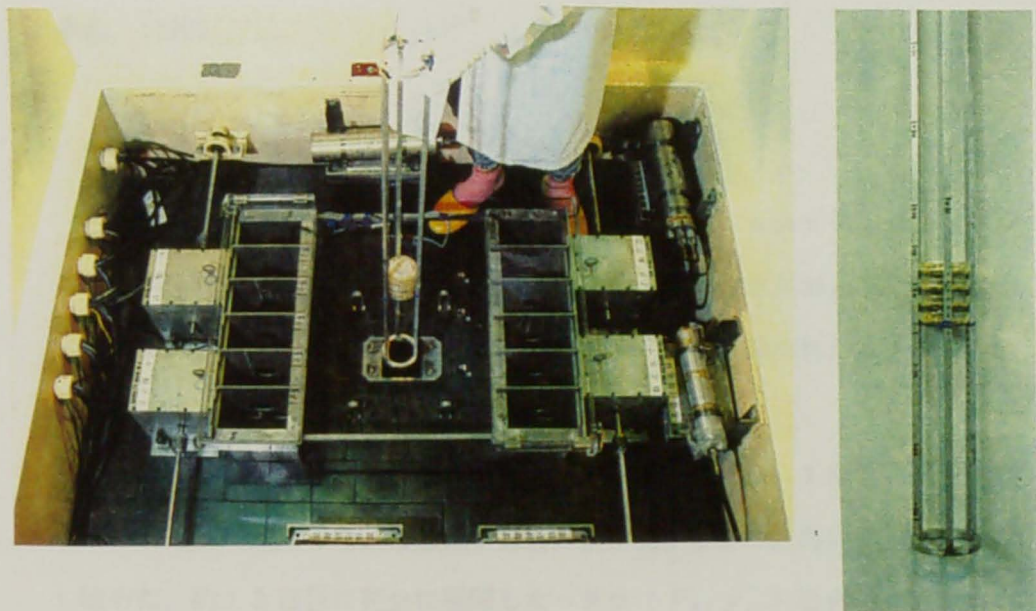


図 7. 近畿大学原子炉の炉心生物照射場と生物照射設備。

14 MeV 中性子の照射

種子の 14 MeV 中性子照射は、大阪大学工学部の強力 14 MeV 中性子

工学実験装置OKTAVIAN (Sumita et al., 1982) を使用した。

この装置は、240 kVに加速した D^+ ビームを10 CiのTiT固定空冷ターゲットに照射することにより、D-T反応による単色の14 MeV中性子を発生させる。その中性子発生量は 2.0×10^{11} 中性子粒子数/秒である。照射場所はターゲットから60 cm～122 cmで、照射時間は2時間とした。

14 MeV中性子のフルエンス（中性子粒子数/cm²）は、種子を入れたプラスチックシャーレに取り付けた直径0.5インチの薄いニオブ箔の放射化量の半導体ゲルマニウム検出器による測定結果から求めた (Oda et al., 1988; Yamamoto et al., 1989)。混在するガンマ線の線量は、酸化ベリリウム型熱蛍光線量計のUD-170L型素子（松下電機産業社製）を用いて測定した（久永他, 1990）。

育苗

照射した種子は、照射後2時間以内に育苗箱（30 cm×57 cm×7 cm）に1列あたり8粒で10列蒔いた。その後、第1本葉および第2本葉が完全に展開するまでの約3週間の間、20℃～30℃に保たれた温室内で栽培した。

照射した種子から、播種後3日目に子葉が地上に現れ、7日目には子葉が対生して完全に展開した。播種後9日目には単葉が子葉に直角に対生して展開し始めた。約13日目に完全に展開したヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の単葉を採取して観察に供した。約23日目には3枚の小葉からなる第1本葉と第2本葉が互生して完全に展開した。この時点で、ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の本葉を採取し、観察に用いた (図8)。ホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合体からは10日目に単葉を採取した。この黄色植物は、第1本葉が展開した以降は発育が悪く、2～3週間後には茶褐色に変色して枯死してしまった。

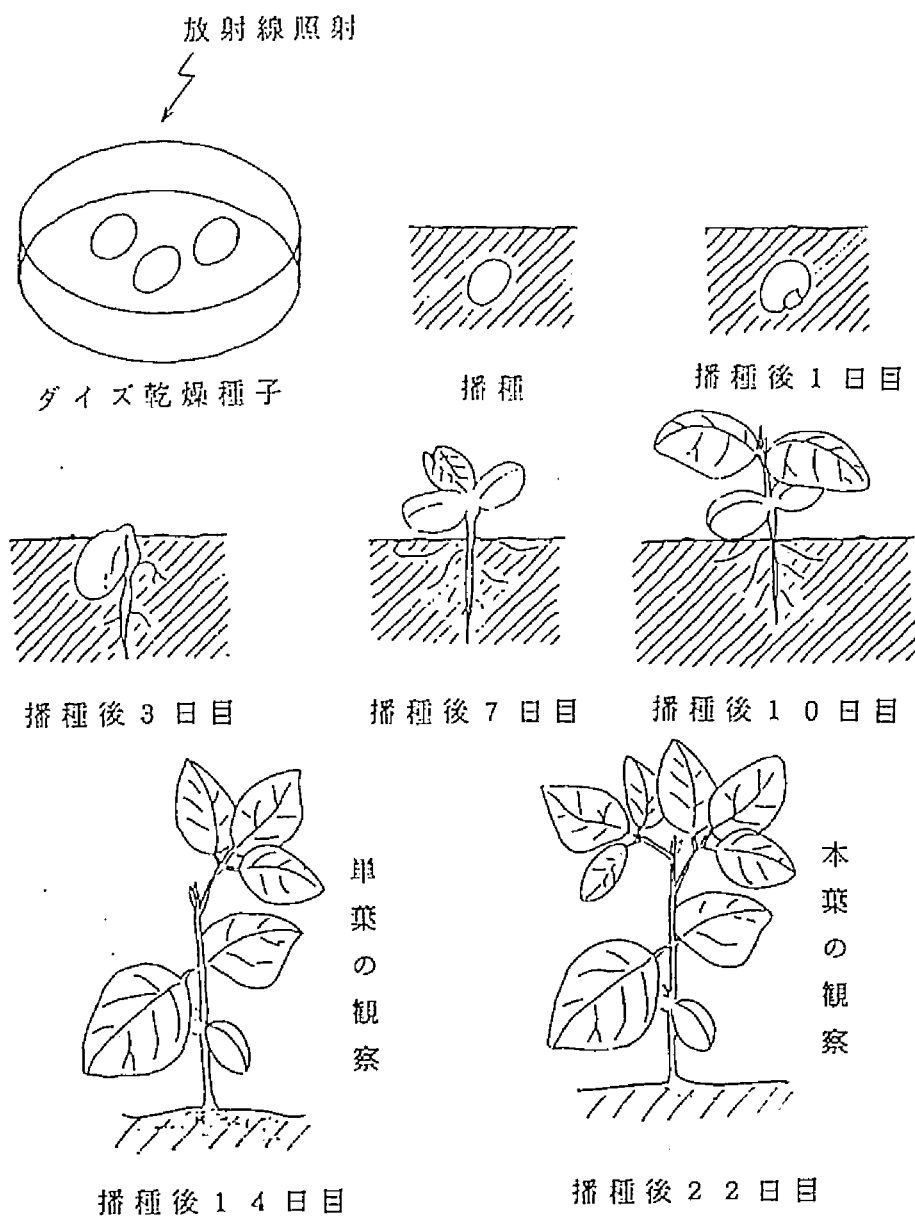


図 8. ダイズ乾燥種子の照射と育苗.

b. 葉色変異斑の分類

採集したヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合型およびホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合型植物の全ての葉は、その表面をカラーコピーで複写し、コピーと見比べながら葉の表面を1枚1枚肉眼で調べ、葉色変異斑と判定されたものは、コピー上にその輪郭と葉色変異斑の種類を記した。葉色変異斑の肉眼で検出できる最小面積は、約 $1.6 \times 10^{-2} \text{ mm}^2$ である。

図9に示したように次の3種の葉色変異斑が発生した。

- (1) ホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合型黄色植物の葉上に現れた淡緑色変異斑
- (2) ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合型淡緑色植物の葉上に現れた濃緑色変異斑
- (3) ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合型淡緑色植物の葉上に現れた黄色変異斑


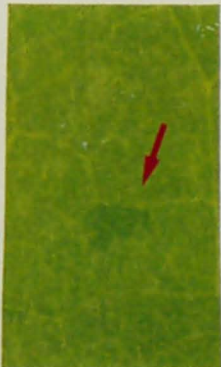

植物体の遺伝子型	ホモ接合体 ($y_{II}y_{II}$)	ヘテロ接合体 ($Y_{II}y_{II}$)	
植物体の葉色	黄	淡緑	
突然変異型	復帰変異	復帰変異	欠失変異
変異斑の色	淡緑	濃緑	黄
葉色変異斑 の例			

図9. 3種のダイズ葉色変異斑の分類。

ほとんどの葉色変異斑は、葉の表側（柵状組織）（図4 参照）に発生し、まれに葉の裏側（海綿状組織）（図4 参照）にも発生した。葉の表から裏に突き抜けた変異斑はほとんど観察されなかった。本研究では、葉の表に出現した葉色変異斑についてのみ調査した。

第1本葉も第2本葉も3枚の小葉からなる。個々の小葉を別々の葉として取り扱った。

（2） 実験結果

a. 中性子の吸収線量

中性子フルエンス F_n （中性子粒子数/cm²）とダイズ乾燥種子（ST）の吸収線量 D の間には、次の関係が成り立つ：

$$D \text{ (ダイズ組織)} = k_{ST} F_n \quad (1)$$

この式の k_{ST} は、 F をダイズ組織吸収線量に換算する係数で、次式によって計算した。

$$k_{ST} = \sum_i k_i (E_N) w_i \quad (2)$$

k_i はエネルギー E_N の中性子（1粒子/cm²）で1 g の元素 i に付与する運動エネルギーであり、 w_i はダイズ乾燥種子を分析して得られた元素 i の重量割合である。

ダイズ乾燥種子の元素組成の重量割合（ w_i ）は、乾燥種子の種皮を除く胚のH、C、N、Oの元素分析を（株）東レリサーチセンター（滋賀）に依頼して測定した。その結果、 $w_H = 7.9 \pm 0.2 \%$ 、 $w_C = 47.0 \pm 0.1 \%$ 、 w_N

$= 7.0 \pm 0.01\%$, $w_o = 31.4 \pm 0.2\%$, $w_{other} = 6.7 \pm 0.3\%$ であった。

原子炉中性子の吸収線量

表2のエネルギー0.1から1.3 MeVの中性子に対する k_{ST} 値は、ICRU Report 13 (1969)に示されている k_i の値を(2)式に代入して計算した。

表2. ダイズ乾燥種子に対するフルエンスから
吸収線量への換算因子 k_{ST}

中性子の エネルギー (MeV)	$k_{ST}^{a)}$ (10^{-9} rad/fluence)	$k_{ST}/k_{HT}^{b)}$
1.3	2.02	0.81
1	1.91	0.78
0.8	1.63	0.82
0.3	1.00	0.81
0.1	0.518	0.81

a) エネルギー0.1から1.3 MeVの中性子に対する k_{ST} 値は、ICRU Report 13 (1969)に示されている k_i の値を(2)式に代入して計算した。

b) k_{HT} の値は、ICRU Report 13 (1969)より引用した。

ダイズ組織の k_{ST} 値と人体組織の k_{HT} 値 (ICRU Report 13, 1969) の比は、

中性子のエネルギー $0.1 \sim 1.3 \text{ MeV}$ の範囲で、ほとんど一定の値になる (表 2)。この範囲は、原子炉中性子で生物作用の強い部分をほとんどカバーしている。

対合電離箱の組み合わせで測定した近畿大学原子炉内の中性子による人体組織吸収線量率は、生物試料照射場で 1 時間あたり 20 (rad/人体組織) となった。この数値に、表 2 で示した $0.1 \sim 1.3 \text{ MeV}$ の k_{ST}/k_{HT} の平均値 0.806 をかけると、ダイズ乾燥種子の胚の中性子に対する吸収線量率が $16 \text{ (rad/ダイズ組織/時間)}$ となった。

14 MeV 中性子の吸収線量

14 MeV 中性子に対する k_{ST} 値は、次式より計算した。

$$k_{ST} = N_A \sum_i (w_i [\text{g}]/A_i) \sigma_i E_i [\text{MeV barns}] / 6.24 \times 10^7 [\text{MeV/g}] \quad (3)$$

ここで、 N_A はアボガドロ数、 w_i はダイズ乾燥種子の元素 i の重量割合、 A_i は元素 i の質量数、 $\sigma_i E_i$ は元素 i の原子核が中性子との反応から変換した全運動エネルギーであり、そして分母は (MeV/g) から rad への換算係数である。14 MeV に対する $\sigma_i E_i$ 値は、Randolph (1957) から得たもので、H で 4.86, C で 2.99, N で 3.42, O で 3.73 である。

k_{ST} は $5.7 \times 10^{-9} \text{ (rad/1 中性子粒子)}$ となった。この k_{ST} 値と実際に照射試料と共に照射したニオブ箔の放射化法より求めた 14 MeV 中性子のフルエンス F 値から (1) 式より 14 MeV 中性子のダイズ乾燥種子の吸収線量を求めた。

中性子線量計算例

原子炉中性子

電離箱による読み値：

原子炉中性子…………… 20 rad／人体組織／時間

ガンマ線…………… 22 rad／人体組織／時間

(何れも組織等価型電離箱と黒鉛電離箱で測定)

計算値：

$$\begin{aligned} D(\text{rad／ダイズ組織}) &= (\text{電離箱の読み}) \times \langle k_{ST}/k_{HT} \rangle \\ &= 20 \times 0.806 = 16 (\text{rad／ダイズ組織}) \end{aligned}$$

(ただし $\langle k_{ST}/k_{HT} \rangle$ は表2の中性子エネルギー

0.1～1.3 MeVの k_{ST}/k_{HT} の平均値)

14 MeV中性子

実測値：

14 MeV中性子…………… 1.57×10^{10} 中性子粒子数

(Nbの放射化法で測定)

ガンマ線…………… 74 R

(TLD素子BeO(Na)で測定)

計算値：

(3) 式から k_{ST} を求めた結果

$$\begin{aligned} k_{ST} &= N_A \sum_i (w_i/A_i) \sigma_i E_i / 6.24 \times 10^7 \\ &= 5.70 \times 10^{-9} \end{aligned}$$

(1) 式より

$$\begin{aligned} D &= k_{ST} F_n = (5.70 \times 10^{-9}) \times (1.57 \times 10^{10}) \\ &= 90 (\text{rad}) \end{aligned}$$

b. ダイズのホモならびにヘテロ接合型乾燥種子をX線または
中性子で照射した場合の葉色変異斑頻度と線量の関係

(1) 単葉と第1本葉の放射線変異感受性の比較

表3にダイズのホモ ($y_{11}y_{11}$) ならびにヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型乾燥種子をX線 (500 R), 原子炉中性子 (16 rad) あるいは14 MeV中性子 (23 rad) で照射した場合のヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型淡緑色植物の単葉と第1本葉における黄色変異斑の頻度を示す。第1本葉に比べて、単葉の黄色変異斑の発生は、X線で5.4倍、原子炉中性子で6.3倍、14 MeV中性子で4.9倍となった。このことから照射時における単葉の原基は第1本葉の原基の50~60倍も変異感受性が高いことが判った。そこで、以後の研究では、特に断らない限り、単葉に生ずる葉色変異斑のみを対象とすることにした。

表3. ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合体の単葉と第1本葉の黄色変異斑誘発に関する放射線感受性の比較

放射線	黄色変異斑の頻度 ^{a)}		比 [A/B]
	単葉 [A]	第1本葉 [B]	
X線 (500 R)	3.23	0.06	5.4
原子炉中性子 (16 rad)	4.42	0.07	6.3
14 MeV中性子 (23 rad)	4.40	0.09	4.9

a) 1葉あたりの変異斑の個数。

(2) 葉色変異斑頻度と線量の関係

ヘテロ ($Y_{II} y_{II}$) 接合型植物の単葉での葉色変異斑の観察数を表 4 A に、ホモ ($y_{II} y_{II}$) 接合型植物の単葉での葉色変異斑の観察数を表 4 B にまとめて示した。

葉色変異斑頻度は次式に従って求めた。

$$\text{変異斑頻度} = [\text{変異斑の数}] \div [\text{観察葉数}] \quad (4)$$

図 10 A～C に線量と葉色変異斑頻度の関係を示す。いずれのタイプの変異斑頻度も、X 線あるいは中性子の線量にほぼ直線的に比例して増加した。

c. X 線と中性子による葉色変異斑誘発率の比較

図 10 A～C の直線は、次の直線式が成り立つものと仮定し、最小 2 乗法により求めた。

$$Y = a + bD \quad (5)$$

ここで、Y は葉 1 枚あたりの葉色変異斑の数 (変異斑頻度)、D はダイズ乾燥種子の吸収線量 (rad)、a は葉色変異斑の自然発生頻度、b は葉色変異斑の 1 rad あたりの誘発率。

このようにして求めた誘発率 b を表 5 に示した。X 線照射の場合について、各タイプの変異斑の誘発率 b の値を比較すると、淡緑色斑の値は濃緑色斑の値の 1.8 倍、黄色斑の値は濃緑色斑の値の 2.8 倍であった。

中性子の葉色変異斑誘発率 b_n と X 線の葉色変異斑誘発率 b_x の比 b_n/b_x

表4 A. ダイズの y_{II} 遺伝子のヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の
単葉に出現した濃緑色および黄色変異斑の観察数

放射線の種類 と線量	観察葉数	変異斑の観察数		頻度 (斑数/葉)	
		濃緑色	黄色	濃緑色	黄色
0	294	100	176	0.34	0.60
X 線 (R)					
500	184	344	697	1.87	3.79
750	20	62	178	3.10	8.90
原子炉中性子 (rad)					
8	217	306	651	1.41	3.00
16	197	349	941	1.77	4.78
14 MeV 中性子 (rad)					
23	30	116	149	3.87	4.97
52	30	146	243	4.87	8.10
69	29	195	363	6.72	12.5
90	25	371	617	14.8	24.7

表4 B. ダイズの y_{II} 遺伝子のホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合体の
単葉に出現した淡緑色変異斑の観察数

放射線の種類 と線量	観察葉数	変異斑の 観察数	頻度 (斑数/葉)
0	146	101	0.69
X 線 (R)			
500	60	294	4.90
750	16	85	5.31
原子炉中性子 (rad)			
8	109	206	1.89
16	105	410	3.90
14 MeV 中性子 (rad)			
23	21	118	5.62
52	14	215	15.4
69	19	312	16.4
90	17	446	26.2

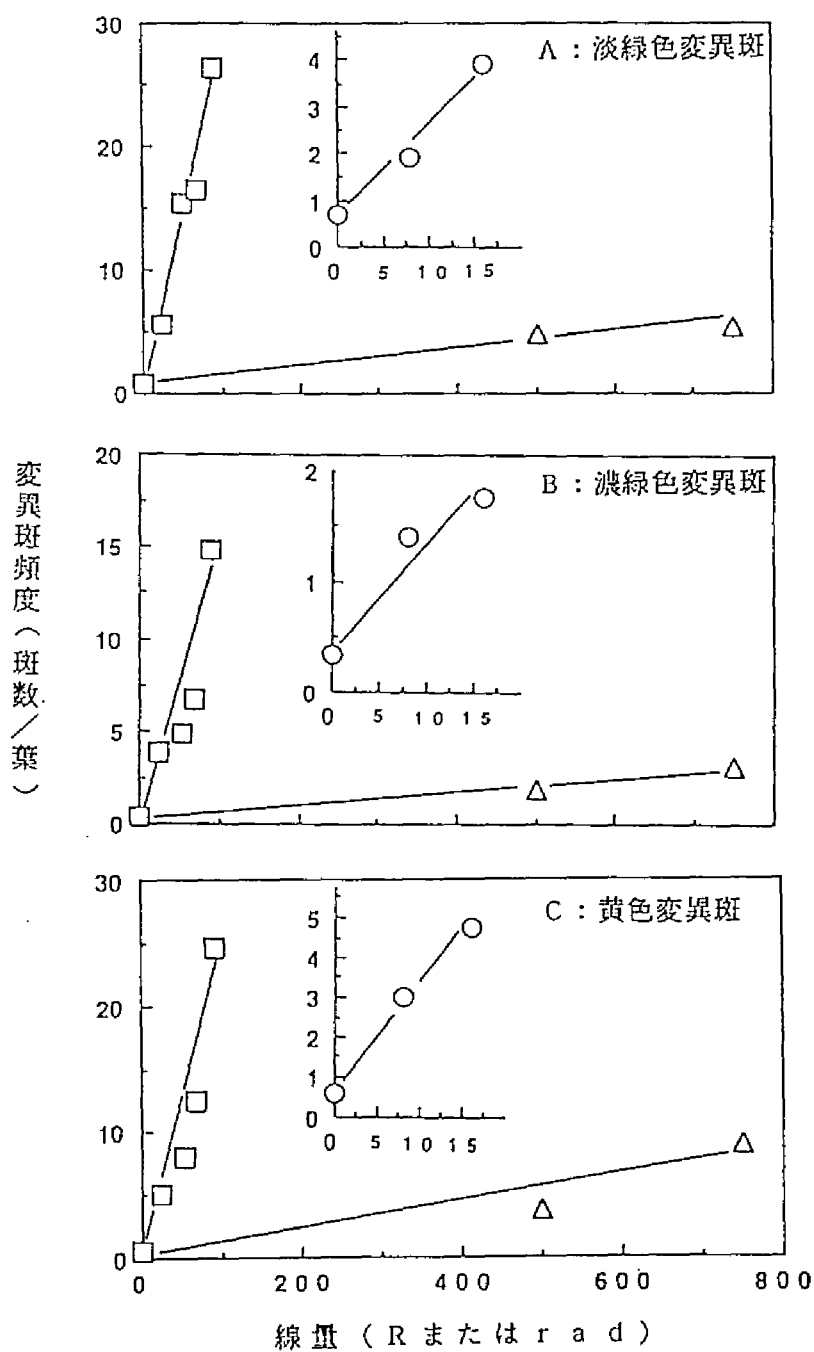


図10. ダイズの葉色変異斑の頻度とX線あるいは中性子の線量との関係。
 X線の線量はR, 中性子の線量はradで示す。
 △: X線, ○: 原子炉中性子, □: 14 MeV 中性子

を表5の右端2つの欄にまとめて示した。この比は中性子の（X線に対する）生物効果比（RBE）と呼ばれるものである。なお、この比の計算でX線の線量Rはradに置き換えたがダイズ組織の場合、X線1R \div 0.92radなので、この変換は結果にほとんど影響しない。

淡緑色変異斑、濃緑色変異斑および黄色変異斑の誘発に関する原子炉中性子の生物効果比は、それぞれ31, 25, 25, また14MeV中性子の生物効果比は、42, 38, 23となった。

以上の生物効果比の計算では、原子炉中性子または14MeV中性子を照射した時の混合ガンマ線の誘発率への寄与を無視した。しかし、線量の値そのものは、原子炉の場合、中性子16radに対し混合ガンマ線が22radで、14MeV中性子の場合、90radに対し混合ガンマ線が74radで、決して無視できない。ところが、ガンマ線の葉色変異斑誘発率bがX線の誘発率 b_x と等しいと仮定すると、表5からの生物効果比が23～42であるから、ガンマ線の寄与は、原子炉中性子でも、14MeV中性子でも、数%以下となり、実験誤差の範囲内である。

表5. ダイズ乾燥種子にX線, 原子炉中性子および1.4 MeV中性子を照射した場合の葉色変異斑誘発率とX線に対する中性子の生物効果比(RBE)

観察した葉 の遺伝子型	誘発した 葉色変異斑 の種類	誘発率 $b (\times 10^{-2})$ (変異斑数/葉/rad)			生物効果比 (b_n/b_x)	
		X 線 b_x	原子炉 中性子 b_n	1.4 MeV 中性子 b_n	原子炉 中性子	1.4 MeV 中性子
$y_{11}y_{11}$	淡緑色	0.65 ± 0.17	20 ± 2.9	27 ± 2.7	31 ± 9.2	42 ± 12
$Y_{11}y_{11}$	濃緑色	0.36 ± 0.05	8.9 ± 2.6	14 ± 3.5	25 ± 7.8	38 ± 11
$Y_{11}Y_{11}$	黄色	1.04 ± 0.57	26 ± 2.0	24 ± 5.1	25 ± 8.7	23 ± 9.2

(3) 考 察

以下に葉色突然変異の放射線誘発機構を中心に考察を行う。表5より、ホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合体葉の淡緑色斑のX線誘発率は、ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体葉の濃緑色斑のX線誘発率の約1.8倍で、ほぼ2に近かった。2にこだわる理由は、ホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合体が、細胞あたり2個の y_{II} 遺伝子をもつのに対して、ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体は1個の y_{II} 遺伝子しかもっていないからである。この標的遺伝子の数の違いを反映して、誘発率の比が2近くになったものと思われる。これらの変異斑は、 y_{II} 遺伝子の野生型遺伝子 Y_{II} への復帰であると仮定すると(図9)、 y_{II} が2個ある前者が y_{II} が1個の后者より約2倍の頻度で変異が起こることが期待されるからである。

ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体葉の黄色変異斑の誘発率は、X線に比べ原子炉中性子で2.5倍高い値を示した。また、ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の葉では、野生型遺伝子 (Y_{II}) の欠失によると思われる黄色変異斑が復帰突然変異斑(濃緑色変異斑)よりも約3倍高い誘発率を示した。この結果は、黄色変異斑は Y_{II} 遺伝子の欠失によって起こったのに対して、復帰突然変異斑は点突然変異の結果として起こったという、これまでに提唱されていたモデル (Vig and Paddock, 1968; Vig, 1974; Vig, et al., 1976) と矛盾しない。なぜなら、中性子は植物の遺伝子の欠失突然変異をX線よりも大変高い効率で誘発することが知られており (Kondo, 1964)、また、電離放射線は点突然変異よりも欠失突然変異をより高頻度に誘発する (Ishii and Kondo, 1975; Sankaranarayanan, 1982) からである。

しかし、Vigと共同研究者のモデルは、X線と中性子の葉色変異斑誘発率を比較した次の結果と矛盾する。復帰突然変異斑の誘発に関する中性子の生物効果比は黄色変異斑の誘発に関する中性子の生物効果比にほとんど等しい(表5)。この事実は、復帰突然変異斑も黄色変異斑と類似の機構によって、放射線で誘

発されることを示唆している。すなわち、両者はともに遺伝子欠失によると考える方が適切と思われる。

ここに欠失による復帰突然変異を説明するため、図11のモデルを提唱する。

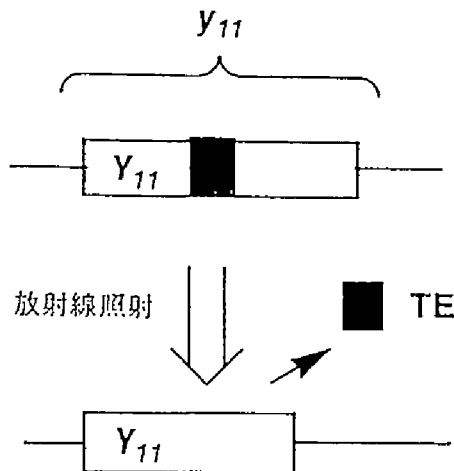


図11. 放射線照射による y_{11} 遺伝子の野生型遺伝子(Y_{11})への復帰機構。
TEはトランスポゾン。

このモデルは、野生型遺伝子 Y_{11} の中、あるいは近傍にトランスポゾンが侵入したため、その機能が抑制されて y_{11} 遺伝子になったと仮定する。このトランスポゾンの喪失は野生型遺伝子への正常な機能回復をもたらす。この結果として、 y_{11} 遺伝子のホモ($y_{11}y_{11}$)接合体では淡緑色変異斑が、ヘテロ($Y_{11}y_{11}$)接合体では濃緑色変異斑が生ずる。放射線によるトランスポゾンの喪失には、その両端におけるDNA鎖の切断が必要である。集中的なDNA損傷は、X線よりも速中性子によってかなり高い頻度で誘発される(Leent-houts and Chadwick, 1978)。実際、トランスポゾンを捕まえていないので、このモデルについて、これ以上のことは言えない。変異斑頻度と1個あたりの遺伝子の変異頻度の関係は第7節の結論でのべる。

第4節 ダイズのホモ ($y_{II}y_{II}$) ならびにヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合型

吸水種子のX線と中性子に対する突然変異高感受性

(1) 実験方法

この実験には、1988年に大阪府立農林技術センターで収穫した種子を用いた。実験は1991年に実施した。

実験を始める2～3日前に冷蔵庫より取り出し、室温で乾燥状態に保持した乾燥種子を実験に供した。

吸水種子は乾燥種子を25℃の蒸留水に空気を送りながら24時間吸水させて得た。それらは直径6cmのプラスチックシャーレに60粒ずつ入れ、X線または原子炉中性子に暴露した。乾燥種子も同時に同様に照射した。

乾燥種子と吸水種子のX線照射は、近畿大学原子力研究所のX線発生装置（日立メディコ社製）を使用した。照射条件は、電圧140kVp、電流4mA、1mmアルミニウムフィルターとした。照射線量は、吸水種子で200Rまたは400R、乾燥種子で500Rまたは1000Rとした。照射線量率は34R/分で、ビクトリン線量計を用いて測定した。

吸水種子と乾燥種子の原子炉照射とその線量測定は、第4節の実験方法と同様である。原子炉の照射時間は、吸水種子も乾燥種子も、0.5時間または1時間とした。

X線または原子炉中性子を照射後、直ちに育苗箱に播種し、第4節の場合と同様に育成し、ホモ ($y_{II}y_{II}$) ならびにヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体植物の葉色変異斑を観察した。

(2) 実験結果

a. 中性子の吸収線量

ダイズ乾燥種子の原子炉内の生物照射場の1時間あたりの生体組織の吸収線量率 ($\text{rad}/\text{時間}$) は、原子炉中性子で20, ガンマ線で22となった。第4節と同様の方法に、表2で示した中性子エネルギー0.1~1.3 MeVの k_{ST}/k_{HT} 値の平均値0.806を用いて、ダイズ乾燥胚の吸収線量率を計算した結果、原子炉中性子は16 ($\text{rad}/\text{時間}$) となった。

吸水種子は、元素組成の重量割合 (w_i) が乾燥種子と異なる。乾燥種子を24時間吸水処理した場合、吸水種子は吸水による重量増加が130%となった。従って、この場合の元素組成の重量含有率 (w_i) は、ダイズ乾燥種子の元素組成の w_i を補正して計算した。その結果、 $w_H = 9.7\%$, $w_C = 20.4\%$, $w_N = 3.0\%$, $w_O = 63.9\%$, $w_{\text{other}} = 2.9\%$ となった。この値とICRU Report 13 (1969) に示されている k_i の値を(2)式に代入して、中性子エネルギー0.1~1.3 MeVの k_{ST} を計算し、それぞれのエネルギーの k_{ST}/k_{HT} 値の平均値を求めると0.97となった(表6)。

一方、原子炉に試料を入れた場合と入れない場合について、CR-39のエッチピット法による速中性子フルエンス F を測定した時の F 値の変化から、吸水種子を原子炉で照射すると、照射場の1時間あたりの生体組織の吸収線量率 ($\text{rad}/\text{時間}$) は、乾燥種子を原子炉で照射した場合を1とすると0.83となった。ゆえに、吸水種子の吸収線量率は、照射場の1時間あたりの生体組織の吸収線量に 0.805 (0.97×0.83) を乗じた値となり、實際上、乾燥種子も吸水種子もほぼ同じ吸収線量率 ($16 \text{ rad}/\text{時間}$) となった。

表6. ダイズ吸水種子に対するフルエンスから
吸収線量への換算因子 k_{ST}

中性子の エネルギー (MeV)	$k_{ST}^{a)}$ (10^{-9} rad/fluence)	$k_{ST}/k_{HT}^{b)}$
1.3	2.45	0.97
1	2.36	0.96
0.8	1.94	0.97
0.3	1.19	0.97
0.1	0.62	0.97

a) エネルギー 0.1 から 1.3 MeV の中性子に対する k_{ST} 値は、
ICRU Report 13 (1969) に示されている k_1 の値を (2) 式に
代入して計算した。

b) k_{HT} の値は、ICRU Report 13 (1969) より引用した。

b. ダイズのホモならびにヘテロ接合型吸水種子を X 線または
中性子で照射したときの葉色変異斑頻度と線量の関係

X 線と原子炉中性子を照射した乾燥種子と吸水種子のヘテロ ($Y_{II}y_{II}$)
接合型植物の単葉での葉色変異斑の観察数を表 7 A に、ホモ ($y_{II}y_{II}$) 接合
型植物の単葉での葉色変異斑の観察数を表 7 B にまとめている。淡緑色、濃緑
色および黄色変異斑の頻度は (4) 式より求めた。

表 7 A. ダイズ吸水種子と乾燥種子に X 線または原子炉中性子を照射した場合ヘテロ ($Y_{III}y_{III}$) 接合体の単葉に出現した濃緑色および黄色変異斑の観察数

種子の状態	放射線の種類 と線量	観察葉数	変異斑の観察数		頻度 (斑数/葉)	
			濃緑色	黄色	濃緑色	黄色
吸 水	0	3 3	9	2 2	0.2 7	0.6 7
	X 線 (R)					
	2 0 0	1 0	5 8	9 0	5.8 0	9.0 0
	4 0 0	5	9 0	1 4 8	4 5.0	2 9.6
	原子炉中性子 (rad)					
	8	1 3	4 3	5 9	3.3 1	4.5 4
乾 燥	1 6	1 0	6 0	9 5	6.0 0	9.5 0
	0	4 1	2 2	1 4	0.5 4	0.3 4
	X 線 (R)					
	5 0 0	2 8	7 5	1 0 4	2.6 8	3.7 1
	1 0 0 0	2 1	1 5 3	1 8 5	7.2 9	8.8 1
	原子炉中性子 (rad)					
	8	2 4	5 7	8 3	2.3 8	3.4 6
	1 6	3 1	8 8	1 8 3	2.8 4	5.9 0

表 7 B. ダイズ吸水種子と乾燥種子に X 線および原子炉中性子を照射した場合劣性ホモ ($y_{III}y_{III}$) 接合体の単葉に出現した淡緑色変異斑の観察数

種子の状態	放射線の種類 と線量	観察葉数	変異斑の 観察数	頻度 (斑数/葉)
吸 水	0	1 4	2 0	1.4 3
	X 線 (R)			
	2 0 0	1 8	2 0 7	1 1.5
	4 0 0	8	4 0 7	5 0.9
	原子炉中性子 (rad)			
	8	2 3	2 1 6	9.3 9
乾 燥	1 6	2 1	3 6 7	1 7.5
	0	2 4	4 1	1.7 1
	X 線 (R)			
	5 0 0	2 2	1 6 1	7.3 2
	1 0 0 0	3 2	4 1 6	1 3.0
	原子炉中性子 (rad)			
	8	2 1	9 8	4.6 7
	1 6	1 5	1 3 4	8.9 3

図 1 2 A ~ C に線量と葉色変異斑頻度の関係を示した。いずれのタイプの葉色変異斑についても頻度と X 線線量あるいは中性子線量の関係はほぼ直線的になった。変異斑頻度と線量の関係を (5) 式の直線の式に回帰させて (図 1 2), 各タイプの葉色変異斑の誘発率 b を求めた (表 8)。

c. ダイズのホモならびにヘテロ接合型の乾燥種子と吸水種子

の放射線に対する変異感受性の比較

表 8 の b 値の比較から, X 線の照射による葉色変異斑の誘発の場合, 吸水種子は乾燥種子の約 10 倍高い感受性を示すことがわかった (表 9)。他方, 原子炉中性子照射による場合, 吸水種子は乾燥種子に対して感受性比は約 2 倍にすぎなかった (表 9)。

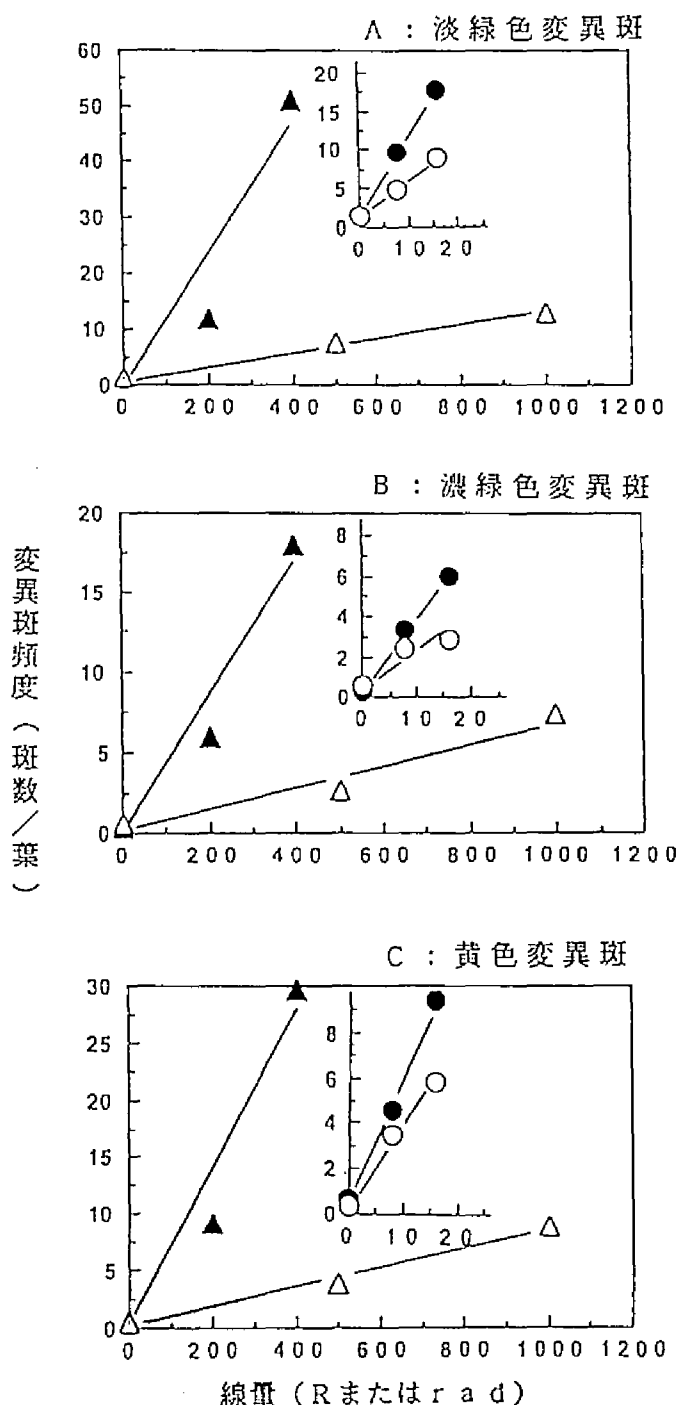


図12. ダイズの吸水種子と乾燥種子をX線または中性子で照射した場合の葉色変異斑の頻度と線量の関係. X線の線量はR, 中性子の線量はradで示す.

△, ▲: X線

○, ●: 原子炉中性子

△, ○: 乾燥種子, ▲, ●: 吸水種子

表 8. ダイズ吸水種子および乾燥種子に X 線または原子炉中性子を照射した場合の葉色変異斑誘発率と X 線に対する中性子の生物効果比の比較

種子の状態	観察した葉の遺伝子型	誘発した葉色変異斑の種類	誘発率 $b (\times 10^{-2})$ (変異斑数/葉/rad)		生物効果比 (b_a/b_x)
			X 線 b_x	原子炉 中性子 b_a	
吸 水	$y_{II}y_{II}$	淡緑色	12.4 ± 4.2	100 ± 1.1	8.1 ± 2.7
	$Y_{II}y_{II}$	濃緑色	4.43 ± 0.97	35.8 ± 1.3	8.1 ± 1.8
	$Y_{II}Y_{II}$	黄色	7.23 ± 0.24	55.2 ± 3.8	7.6 ± 2.0
乾 燥	$y_{II}y_{II}$	淡緑色	1.13 ± 0.004	45.1 ± 4.7	39.9 ± 4.2
	$Y_{II}y_{II}$	濃緑色	0.68 ± 0.14	14.4 ± 5.0	21.5 ± 8.5
	$Y_{II}Y_{II}$	黄色	0.85 ± 0.10	34.8 ± 2.4	40.9 ± 5.6

表 9. ダイズの乾燥種子と吸水種子の X 線と中性子に対する放射線感受性の比較

放射線	葉色変異斑の種類	感受性の比較	
		乾燥種子 : 吸水種子	
X 線	淡緑色	1	: 1 1
	濃緑色	1	: 6.5
	黄色	1	: 8.5
中性子	淡緑色	1	: 2.2
	濃緑色	1	: 2.5
	黄色	1	: 1.6

d. ダイズのホモならびにヘテロ接合型吸水種子照射における

X線と中性子の突然変異斑誘発率の比較

表8には、吸水種子あるいは乾燥種子を原子炉中性子で照射した場合の葉色変異斑の誘発率 b_0 とX線による誘発率 b_x の比(b_0/b_x)を各タイプの葉色変異斑について示している(表8の最後の欄)。この比の値(生物効果比)は吸水種子照射の場合7~8となった。これらの値は、乾燥種子照射の場合の生物効果比の1/5~1/3である。

(3) 考察

ダイズの吸水種子のX線照射による葉色変異斑誘発率は、乾燥種子のX線照射による誘発率よりも約10倍高い値を示した(表9)。これは、Ikushima(1972)がアルビノヘテロ接合体エンバクで報告している。吸水による変異誘発感受性の著増現象を再確認したものである。

Vig(1974)によると、本研究と同じ系統のダイズの乾燥種子と吸水種子にガンマ線を照射した場合、吸水による葉色変異斑の誘発頻度の増加はせいぜい2倍である。この値と本研究のX線で得られた値(表9)にかなりの隔たりがある。Ikushima(1972)によれば、エンバク吸水種子のX線に対する変異誘発感受性は、吸水させた時間に強く依存する。従って、本研究とVigの研究の結果の違いは、本研究の吸水種子が乾燥種子を24時間吸水して得られたものであるのに対して、Vigの研究の吸水種子はわずか4時間の吸水で得られたものであることに原因があると思われる。乾燥種子を水に4時間浸したときの種子の重量増加を図3より推定すると65%となり、これは24時間吸水したときの半分である。ただし、照射時の発芽段階が異なるので、水分含量の違いのみに原因を求めることはできない。

吸水による変異誘発感受性の上昇は、X線照射で約10倍であったのに対

して、中性子照射の場合わずか2倍であった(表9)。この違いは、X線がもたら水分子の分解によるOHラジカルを介してDNAに作用するのに対して、原子炉からのエネルギーの高い速中性子は、反跳陽子を通してDNAに直接作用する割合が多いことを反映していると思われる。中性子は水素原子核(陽子)と衝突し、高速陽子をはじき出す。その陽子はDNAに作用して、密集して傷をつくる。OHラジカルは分散型のDNA損傷を作る。分散型の傷は大部分がすみやかに修復されるが、密集型の傷は修復されにくい(Leenthouits and Chadwick, 1978)。そのためDNAが部分的に欠損した変異が中性子照射ではふえる(Itoh and Kondo, 1991)。このため、同一の吸収線量で比べたとき、中性子の生物作用がX線よりも大きい値になると考えられる。

第5節 ヘテロ接合型ダイズの照射時の苗令によるX線誘発変異斑 の形態の変化と葉原基の分化段階

(1) 実験方法

この実験には、1988年に大阪府立農林技術センターで収穫した種子を用いた。実験は1989年に実施した。

実験を始める2～3日前に冷蔵庫より取り出し、室温で乾燥状態に保持した乾燥種子を実験に供した。

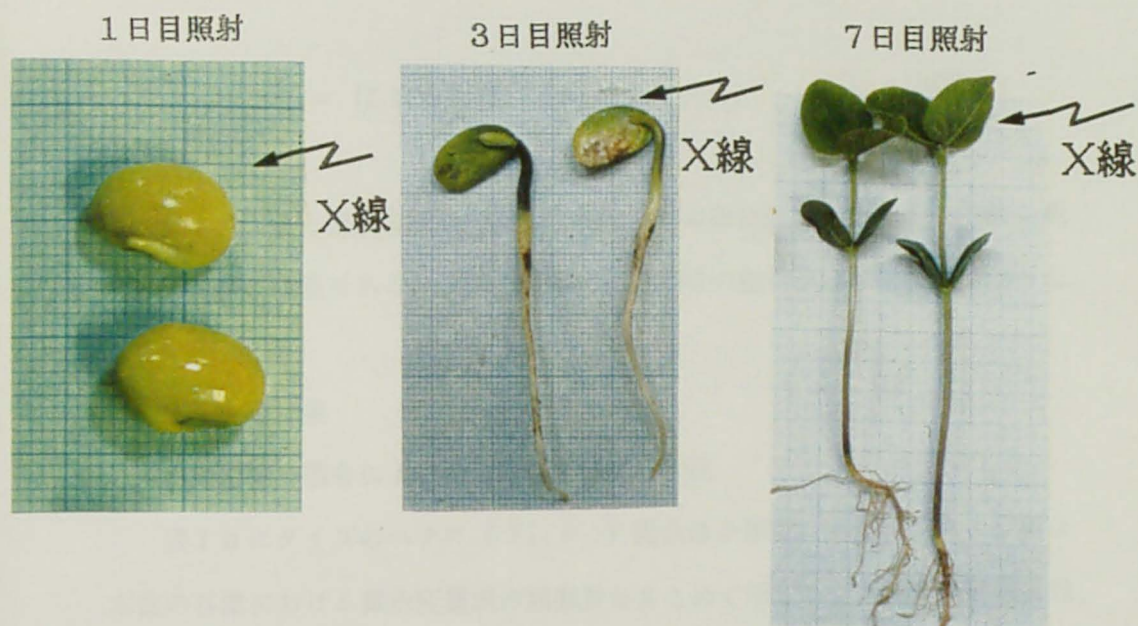
播種後1日目、3日目、7日目の各時期のダイズ実生の茎頂部に、200 RのX線を照射し、13日目にヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の単葉、23日目にヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の第1、第2本葉で、黄色あるいは濃緑色の変異斑を調査した(図13)。この実験でも、観察対象の植物体の調査したすべての葉をカラーコピーして、変異斑の観察と記録に用いた。

ダイズ実生の茎頂部の照射には、X線発生装置(日立メディコ社製)を用いた。照射条件は、電流4 mA、電圧140 kVp、0.2 mm銅と1.0 mmアルミニウムフィルターとした。線量測定には黒鉛型イオンチェンバー(Far West Tech. 社製)を用いた。線量率は12～15 R/分で、線量は200 Rとした。

第1本葉も第2本葉も3枚の小葉からなる。個々の小葉を別々の葉として取り扱った。

検出された変異斑の大きさは、小さい変異斑については、実物をマイクロスケラー(0.1mm×0.1mmの升目)を取り付けた実体顕微鏡下で、大きい葉色変異斑については、カラーコピー上でプランニメーターを用いて、測定した。

葉色変異斑の表面積 A_{mosaic} は、変異細胞の数 M と次のような関係にある。ただし、 σ は変異細胞の平均表面積(葉の表皮側からみた細胞の面積)である。



播種後 13 日目
単葉の葉色変異斑の観察

播種後 23 日目
第 1 本葉と第 2 本葉の葉色変異斑の観察

図 13. ダイズ実生の X 線照射から変異斑検出までの実験過程.

$$A_{\text{mosaic}} (\text{mm}^2) = \sigma M \quad (6)$$

$$\sigma = (2.50 \pm 0.14) \times 10^{-4} (\text{mm}^2/\text{cell}) \quad (7)$$

σ の値は、単葉と複葉の柵状組織の上側第1層の単位面積あたりの細胞数を測定して得た実測値である。淡緑色植物と黄色植物の細胞面積はほぼ等しかった。

(2) 実験結果

a. 照射時の苗令による葉色変異斑頻度の変化

表10にダイズのヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の単葉、第1本葉および第2本葉の各葉における葉色変異斑の観察数をまとめて示した。葉色変異斑頻度は、1葉あたりの黄色変異斑と濃緑色変異斑の総数から求めた。照射後の葉色変異

表10. 照射時期を異にするX線照射によるダイズの葉に出現した濃緑色および黄色変異斑の観察数

葉の種類	播種後X線を照射した日	観察した葉の数	変異斑の観察数	頻度 (斑数/葉)
単 葉	非照射区	24	25	1.04
	1日目照射	11	182	16.5
	3日目照射	6	981	163.5
	7日目照射	20	21	1.05
第1本葉	非照射区	48	10	0.21
	1日目照射	76	36	0.47
	3日目照射	72	320	4.44
	7日目照射	24	531	22.1
第2本葉	非照射区	57	6	0.11
	1日目照射	78	14	0.18
	3日目照射	81	104	1.28
	7日目照射	18	369	20.5

斑頻度から非照射区の葉色変異斑頻度を差し引いて、葉色変異斑誘発頻度を求めた。この頻度を照射時期（播種後の日数）に対してプロットしたものが図14の黒印である。この図から次の結論が得られる。

結論(1) 播種後1日目と3日目の照射では、葉色変異斑誘発頻度は単葉で最も高く、第2本葉で最も低かった。また、1日目照射の場合に比べて、3日目照射で葉色変異斑の誘発頻度が著増し、その増加率は単葉、第1本葉、第2本葉ではほぼ同じであった。

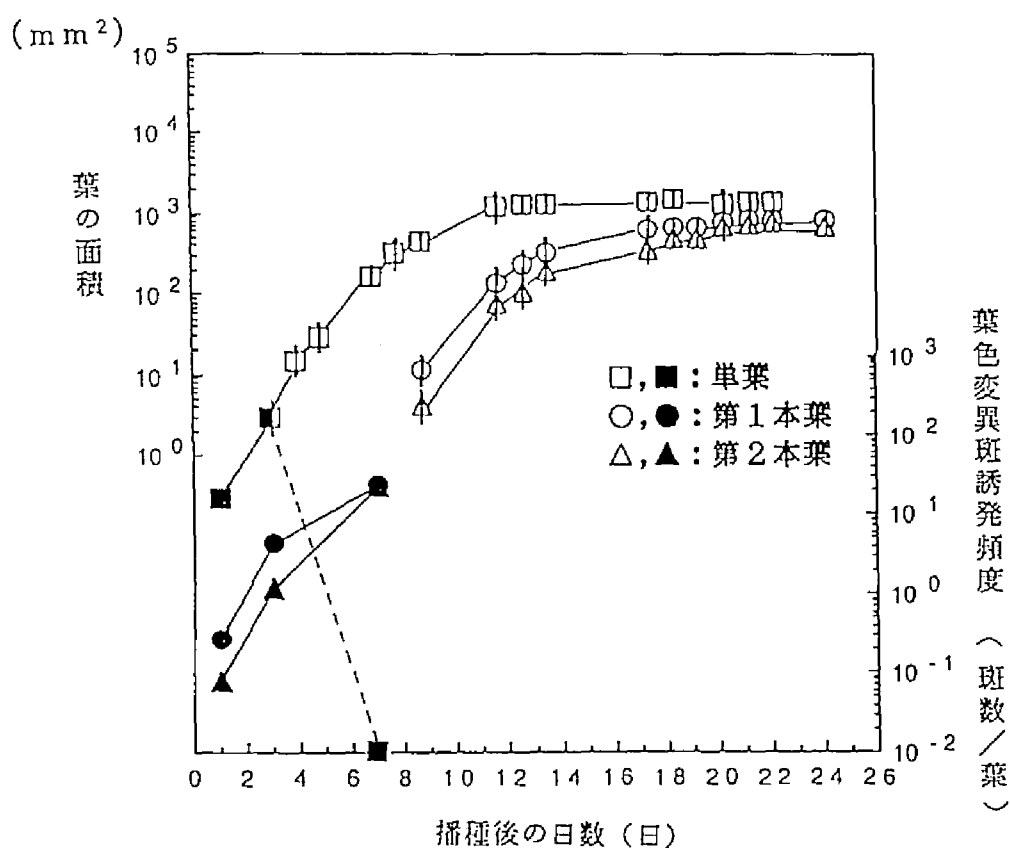


図14. ダイズ葉面積の日令変化とX線照射時期の変化による葉色変異斑誘発頻度の変化。

○, □, △ : 葉の面積
●, ■, ▲ : 葉色変異の誘発頻度

結論(2) 単葉での葉色変異斑の誘発頻度は3日目でピークに達し、7日目ではほとんどゼロになった。第1本葉では、7日目照射では3日目照射の場合よりも高い頻度で葉色変異斑が誘発されたが、この間の増加率は1日目から3日目にかけての増加率よりも明らかに低かった。第2本葉でも、程度は比較的低いが、7日目照射で葉色変異斑誘発頻度の増加率の低下がみられた。

葉色変異斑の誘発頻度は、照射時期における葉の細胞の数に依存して変動するものと思われる。事実、3日目照射の場合の単葉の葉色変異斑誘発頻度を3日目の葉面積実測値と重ね合わせると、葉の面積の1日目の外挿値と1日目の変異斑誘発頻度の実測値が一致する(図14)。1日目から3日目にかけての第1本葉あるいは第2本葉での葉色変異斑誘発頻度の増加傾向も、葉面積の9日目から12日目までの増加曲線を1日目まで外挿した曲線とほぼ重なりあう(図14)。

ただし、結論(2)の中の播種後7日目の照射の場合、単葉の葉色変異斑頻度がゼロになった事実は、単葉の面積は7日目でも増加しているので、標的細胞数依存性の考えからは説明できない。

b. 照射時の苗令による変異斑サイズの変化

葉色変異斑のサイズも照射時の標的細胞数に依存する。図15にサイズの頻度分布を示した。この図では、変異斑サイズの指標として、次式で定義する n を用いた。 n と変異細胞数 M との関係は、 $2^{n-1} < M \leq 2^n$ になるよう決めた〔(6)式参照〕。

変異斑のサイズは、単葉、第1本葉および第2本葉のいずれにおいても、照射時期が遅くなると、小さくなる傾向を示した。3日目照射による単葉の誘発変異斑では、その最大サイズのものが検出下限の微小サイズ(64細胞/ク

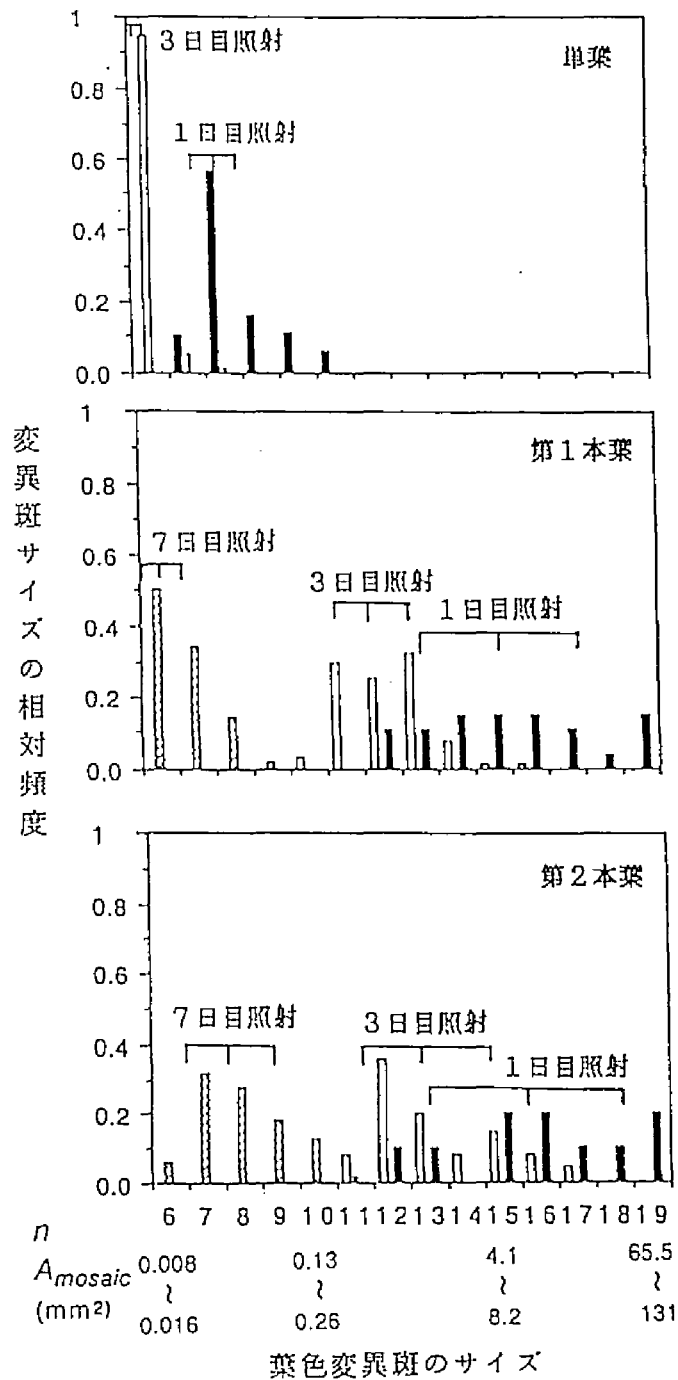


図15. 照射時期を異にするダイズ葉色変異斑のサイズ分布.
図中の横棒は平均値±標準偏差を示す.

ローン)であった。従って、7日目照射による単葉の誘発変異斑は1個も検出されなかったことになる。7日目照射によって第1本葉で誘発された葉色変異斑のサイズの場合は、最高頻度のサイズクラスが検出の下限の微小サイズであった。従って、葉色変異斑のかなりの部分が検出できなかったことになる。第2本葉でも、7日目照射の場合、検出されなかった変異斑があったことが図14から示唆される。即ち、7日目照射の場合の頻度が1日目と3日目の照射の場合から予想される頻度以下であった事実(図14)は、検出限界以下のサイズの変異斑が多発したためと思われる。

c. 誘発変異斑の頻度とサイズの関係

図14と図15からわかるように、X線照射時の播種後日数が増加すると、誘発変異斑の頻度は増加し、変異斑サイズは小さくなった。この逆比例関係を厳密にテストするため、ヘテロ($Y_{II}y_{II}$)接合型ダイズのX線200R照射による[黄色変異斑+濃緑色変異斑]の誘発頻度 F_{ind} と2種の変異斑を区別しない場合の平均相対サイズ r の関係を詳しく調べた。その結果を表11に示す。この表からわかるように、1日目と3日目の照射の第1本葉と3日目の照射の第2本葉の場合の $r F_{ind}$ 値が、 $5 \sim 9 \times 10^{-3}$ とほぼ一定の値となり、逆比例法則が証明された。しかし、これ以外の場合は $r F_{ind}$ 値が小さくなり、検出不能または誘発停止の割合の高いことが示唆された。

d. ヘテロ接合型ダイズに出現した3種の葉色変異斑の形態と

その出現割合の照射時期依存性

ヘテロ($Y_{II}y_{II}$)接合型ダイズの種子および1~7日令の実生に中性子またはX線を照射すると、第1, 第2本葉に多様な形態の葉色変異斑が発生した。それらは、下記の3種に大別できた(図16)。

表 1 1. ヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の X 線照射による黄色または濃緑色変異斑の頻度と平均相対サイズの逆比例関係

照射条件	単葉			第 1 本葉			第 2 本葉		
	$F_{ind}^{a)}$	$r^{b)}$	$rF_{ind}^{c)}$	$F_{ind}^{a)}$	$r^{b)}$	$rF_{ind}^{c)}$	$F_{ind}^{a)}$	$r^{b)}$	$rF_{ind}^{c)}$
対照群	1.04	0.04	0.04	0.21	1.2	0.25	0.11	0.44	0.05
播種後 1 日目 X 線 (200R)	15.5	0.08	1.2	0.26	19	4.9	0.07	31	2.2
播種後 3 日目 X 線 (200R)	162	0.01	1.6	4.23	2.1	8.9	1.17	5.7	6.7
播種後 7 日目 X 線 (200R)	0.01	0.05	0.00	21.9	0.04	0.88	20.4	0.14	2.9

a) 変異斑誘発頻度 (1 葉あたりの誘発黄色変異斑と濃緑変異斑の合計の数)

b) 変異斑相対サイズの平均値 ($\times 10^{-3}$)

c) 変異斑誘発に関する X 線変異感受性 ($\times 10^{-3}$)

- I 型：変異斑の境界が側脈を越えるが主脈を越えない主脈型，
 II 型：変異斑の境界が2次脈を越えるが側脈内に制限される側脈型，
 III 型：変異斑の境界が2次脈内に制限される2次脈型．

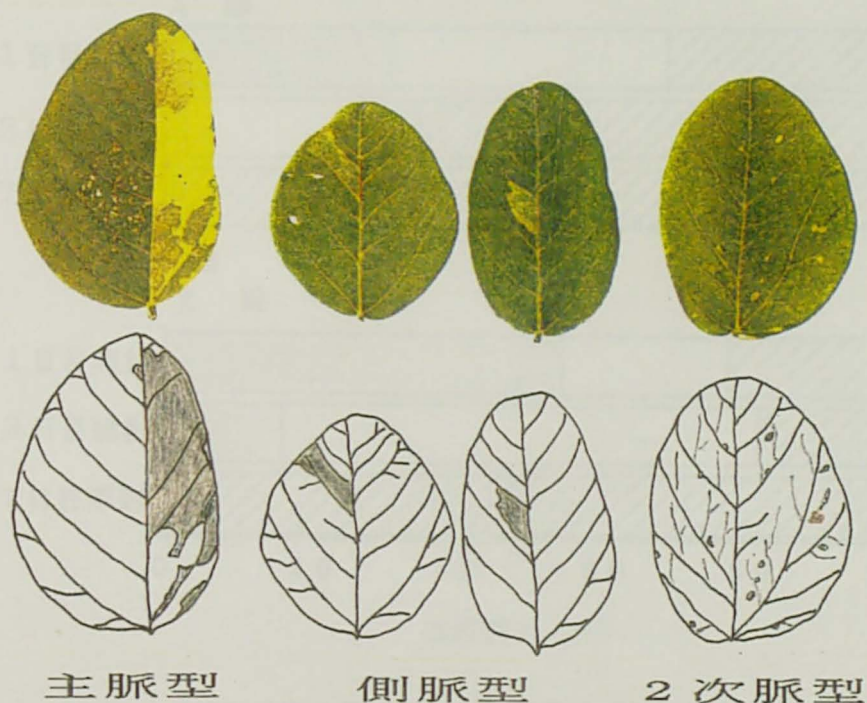


図16. ダイズの葉色変異斑形態の分類.

図17は，3種の変異斑の出現割合を示す．

第1本葉において，0日目，1日目照射では，主脈型，側脈型，2次脈型が，ほぼ同じ割合で出現したが，3日目照射では，主脈型の割合が著減し，2次脈型の割合が著増した．7日目照射ではほとんどが2次脈型となった．

第2本葉では，1日目照射の結果と比べて，3日目照射で，主脈型の割合が著減し，側脈型が著増した．7日目照射ではほとんどの変異斑が2次脈型になった．

第1本葉

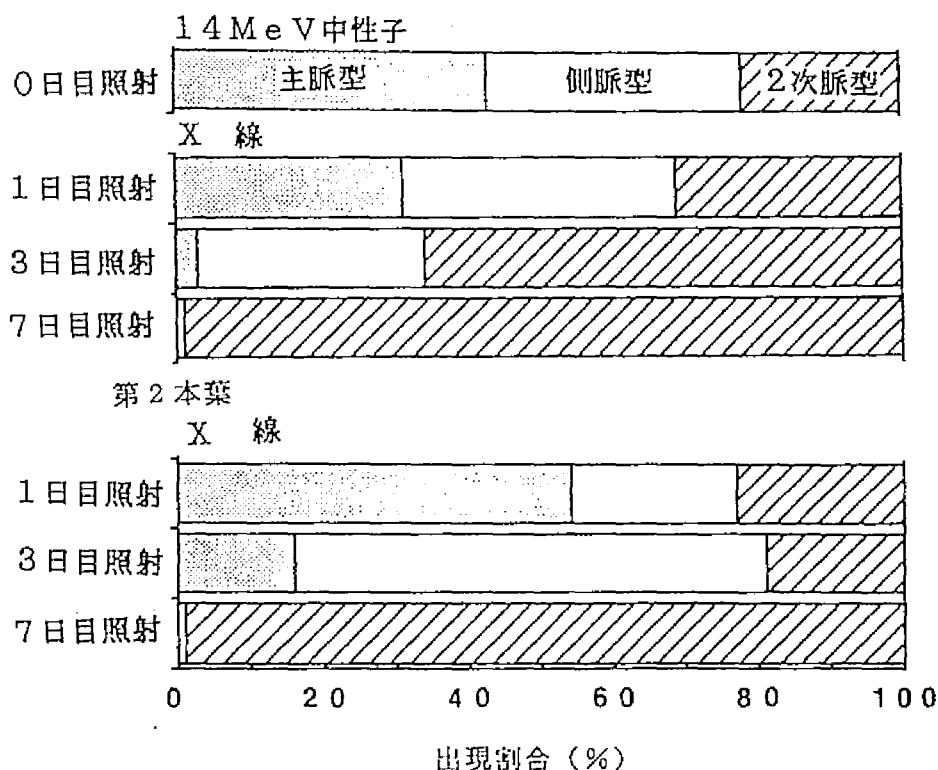


図17. 照射時期を異にするX線処理によって誘発されたダイズ葉色変異斑の3型の出現割合(%)。

(3) 考察

a. ヘテロ接合型ダイズに出現した葉色変異斑形態の放射線照射

時期依存性から推定される葉脈の形成時期

葉脈にまたがって葉色変異斑が形成されるのは、変異が誘発された時点で、その葉脈原基がまだ未完成であったためと解される。このような仮定に基づいて、図17のデータをもとに、第1本葉の主脈、側脈、2次脈の各原基の分化の程度が播種後の日数につれて進展する様子を推定した(図18)。図の縦軸

は、当該葉脈原基の分化の程度を示す。図で100%というのは、葉脈原基の発生が葉全体で完了していることを意味する。この図は、次のことを示唆している。

- (1) 主脈原基は、休眠種子においてその分化を完了している。
- (2) 側脈原基の分化・発生は、播種後1日目に70%、播種後3日目にはほぼ100%の葉原基で完了する。
- (3) 2次脈原基の分化・発生は、播種後1日目で約30%、播種後3日目で約70%、播種後7日目ではほぼ100%の葉原基で完了する。

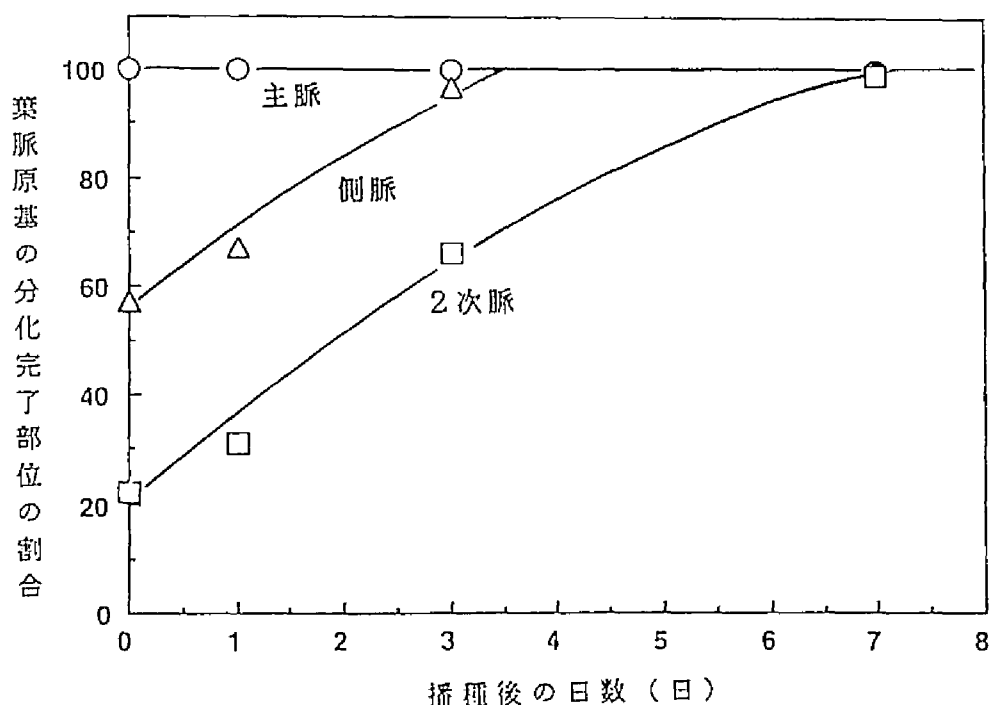


図18. ダイズ第1本葉における主脈、側脈および2次脈原基の分化完了部分の割合と播種後の日数の関係。

b. 葉原基の始原期照射による超大型変異クローンの誘発とその意義

種子（0日令）の中性子照射では，第1本葉に主脈型変異が多発した（図17）が，主脈を越える変異斑は検出できなかった．しかし，第6本葉およびそれより高位の本葉には，主脈を越える超大型変異斑が発生した．図19の左端と中央の例では，変異斑が本葉の半分以上を占め，主脈を越えて広がっている．他方，図19の右端の変異斑は，超大型であるが，主脈を越えていない．これらの結果は，種子内の第6本葉前後とそれ以降の本葉の原基では，主脈原基も未分化であることを示唆する．



図19. ダイズの本葉分化の始原期における照射によって誘発された超大型葉色変異斑の例．

c. ダイズとタバコにおける葉原基の分化・発生過程の比較

単葉での葉色変異斑の誘発頻度は3日目でピークに達し，7日目ではほとんどゼロになり，第1，第2本葉でも，7日日照射で葉色変異斑誘発頻度の増加率の低下がみられた（図14参照）．播種後7日目の照射の場合，単葉の葉色変異斑頻度がゼロになった事実は，単葉の面積は7日目でも増加しているので，標的細胞数依存性の考えからは説明できない．変異斑のサイズは，単葉，第1，第2本葉のいずれにおいても，照射時期が遅くなると，小さくなる傾向を示し

た。3日目照射による単葉の誘発変異斑は、その最大サイズのものが検出下限のサイズであったことから、7日目照射によって誘発された単葉の葉色変異斑は、検出されなかったものと思われる。第1、第2本葉でも、7日目照射の場合の頻度が1日目と3日目の照射の場合から予想される頻度以下であった事実（図14）は、検出限界以下のサイズの変異斑が多発したためと思われる。

誘発変異斑の頻度とサイズの逆比例関係（表11参照）は、播種後1日目と3日目の照射の第1本葉と3日目の照射の第2本葉の場合の $r F_{1.0}$ 値が、 $5 \sim 9 \times 10^{-3}$ とほぼ一定の値となったが、これ以外の場合の $r F_{1.0}$ 値が小さくなったのは上述のように検出限界以下のサイズの変異斑の割合が高いことが原因であると思われる。

体細胞放射線遺伝学的研究により推定したダイズの葉原基の分化・発生の過程を、次に紹介するタバコの葉原基の分化・発生に関する組織学的観察結果（Avery, 1933; Wareing and Phillips, 1981）と比較する。

タバコの葉原基は、始原期（約0.6 mmの長さまで）には、ほとんどが主脈だけからできている。初期（約1.2 mmにのびるころ）になると、始めて、中央の主脈の両側に葉身組織が現れる。中期（約2.4 mmにのびるころ）になって始めて側脈が現れる。葉身と側脈はともに葉原基の周縁部に隆起した葉肉組織から分化する。さらに葉身がのびると、2次脈原基が葉肉組織のいたるところに発生し、柔細胞のすき間をぬって伸長する。2次脈の発達葉身の発達に平行して進行する。

ダイズで観察した変異細胞は葉肉の柵状組織に属する。従って、放射線遺伝学的手法で推定したダイズの葉原基の発生過程はタバコの葉原基の発生過程を直接観察した結果とよく一致したといえよう。すなわち、発生初期の特定の時期に放射線で発生途中の細胞を変異させる。その変異細胞が発生の進展につれて子孫を拡大（変異クローンの拡大）して、やがて変異斑として検出される。

出現した変異斑形態を手がかりにして、照射時の組織分化の状態を知ることができる。この手法からダイズの第1本葉では、休眠種子の主脈原基はすでに分化しているが、葉肉組織は未分化であり、側脈、2次脈は葉肉原基の分化・成長に伴って、この順に分化・成長し、7日令では2次脈の分化も完了する、という結果が得られ、タバコの葉原基に関する組織学的観察との比較から、この手法がダイズの発生過程を知る上で、実際に役立つことが実証できた。

第6節 結 論

- (1) ダイズの半優性遺伝子 y_{11} に関するヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型種子を X 線照射すると、黄色変異斑が濃緑変異斑より高頻度で発生した。ホモ ($y_{11}y_{11}$) 接合型種子の X 線照射では、黄色の葉上に淡緑色の復帰突然変異斑が鮮やかに現れた。この復帰突然変異斑の頻度は、ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合体葉上の濃緑色変異斑の頻度の約 2 倍であった。従って、この濃緑色変異斑も、ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型細胞内の y_{11} 遺伝子が、野生型遺伝子 Y_{11} へ復帰突然変異したことに由来すると解釈できる。なぜなら、 y_{11} 遺伝子の数は、ホモ ($y_{11}y_{11}$) 接合型細胞内ではヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型細胞内の 2 倍であるからである。
- (2) ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型の乾燥種子を中性子で照射した場合の黄色変異斑誘発率 (単位線量あたり) は、X 線の場合の約 30 倍であった。コムギなどの乾燥種子の中性子照射で起こる遺伝子欠失型突然変異 (葉緑素突然変異) の誘発率は、X 線に比べ約 60 倍と報告されている (松村, 1964 参照)。従って、黄色変異斑も野生型遺伝子 Y_{11} の欠失に由来することが強く示唆される。同じ考えは、別の証拠からすでに Vig and Paddock (1968) によって提唱されている。
- (3) ホモ ($y_{11}y_{11}$) 接合型乾燥種子の中性子照射による淡緑色変異斑の誘発率も X 線照射の場合の約 30 倍であった。この変異斑は、 $y_{11} \rightarrow Y_{11}$ の復帰突然変異に由来するから、この復帰突然変異も DNA 欠失によると結論せざるをえない。この結論は、点突然変異に由来するという Vig and Paddock (1968) の考えに反するものである。
- (4) 変異遺伝子 y_{11} が欠失変異により野生型に復帰する機構を次のように考える。 y_{11} 遺伝子は、野生型遺伝子 Y_{11} の中、または近傍に、未同定のトランスポゾンが侵入したものであり、放射線によってこのトランスポゾン

が除去されることにより，野生型に復帰する． y_{11} の半優性的葉緑素抑制特性は，正常野生型対立遺伝子 Y_{11} の量的効果によって説明できる．

(5) ヘテロ ($y_{11}y_{11}$) 接合型タイズのX線照射時期を，播種後1，3，7日目と変えると，単葉，第1，2本葉に出現する変異斑の誘発頻度 F_{ind} は，日令の増加にともなって急増し（7日目照射の単葉は例外），変異斑の平均相対サイズ r は大きく減少した．ただし，「 $r F_{ind} = \text{一定}$ 」の逆比例法則は，1日目と3日目の照射の第1本葉と3日目の照射の第2本葉において成立した．

(6) 播種後，単葉，第1，第2本葉も，初期の成長速度（面積の増加率）は指数関数的に増加した（0.65日で倍増）．X線照射時のダイズ実生日令の増加につれ，誘発変異斑の頻度も指数関数的に増加した（0.63日で倍増）．従って，変異斑の誘発率は，照射時のダイズ実生内の「葉原基（詳しくは柵状組織の原基）の細胞数」に比例すると結論できる．

(7) 7日目照射の場合は，第1，第2本葉とも，その $r F_{ind}$ 値が3日目照射の場合より減少した．これは，変異斑として検出不能な微小斑が多発したためと考えられる．事実，7日目照射の場合，変異斑サイズの対数の分布曲線は，モードより小さい変異斑が欠落した極端な非対称型であった．単葉では，7日目照射の場合，誘発変異斑を検出できなかった．

(8) 放射線誘発の葉色変異斑の形態は，照射時の葉原基の分化段階の有用な指標となる．この証拠として，次の実験結果をえた．種子および播種後1～7日令の実生に中性子またはX線を照射し，第1本葉上に出現する葉色変異斑の形態を調べた．変異斑は，主脈型（変異斑は側脈を越えるが主脈を越えない大型），側脈型（変異斑は2次脈を越えるが側脈を越えない中型）と2次脈型（変異斑が2次脈で囲まれる小型）に大別できた．種子照射では，主脈型変異斑が多発したが，主脈を越える超大型変異斑は検出で

きなかった。ゆえに、休眠種子内の第1本葉の原基においては、主脈原基はすべて分化を完了しているが、葉肉組織は分化の初期段階にあり、側脈原基の分化は組織の一部にとどまっていると考えられる。実生3日令照射の場合は、主脈型変異斑がほとんど発生しなかったので、側脈原基は播種後3日令の実生ではすでに分化を完了しているとみなされる。実生7日令照射の場合は、ほとんどが2次脈型変異斑であったので、2次脈はこの時期に分化を完了していると思われる。以上は、図17に基づく推論であり、これを図示したものが図18である。

乾燥種子の中性子照射では、主脈を越える超大型変異斑が第6本葉以降に発生した。これは、このように後期発生の本葉の原基では、主脈原基も形成されていないことを示唆している。

第2章 ダイズ, エンバク, イエギクにおける体細胞突然変異の放射線 誘発特性の比較

第1節 序論

第1章で述べたようにダイズの乾燥種子にX線を中程度の量(500R)照射すると, 葉色変異斑の頻度が単葉で著増したが, 第1, 第2本葉ではわずかしこ増加しなかった. Nishiyama et al. (1966)によれば, エンバクのヘテロ接合型乾燥種子のX線照射では, 超大線量(数kR以上)ではじめてアルビノ変異斑が増加し, その誘発頻度は観察した葉位間で大きく違わない. Ikushima (1972)によれば, 中性子を用いるとわずか500radでもアルビノ変異頻度を著増させることができる. 本研究では, まずこれらの報告結果を追試した.

つぎに, 種子照射とは異なる苗の照射による変異の誘発実験をキクを用いて行った. Fujii and Mabuchi (1961)は, 栽培ギクの根付きの苗(黄色品種「金鈴」と白色品種「白栄」)にガンマ線を照射すると, 花色突然変異が高い頻度で, その世代に発生すると報告している. Broertjes (1966)とBroertjes et al. (1980)によると, オランダでは栽培ギクに放射線を照射して花色変異種の作成が盛んに試みられている. 筆者は, 最近, 池田ら(1991)との共同研究で, イエギク *Chrysanthemum morifolium* Ram. のスプレーギク品種「セローザ」の挿し穂にX線および原子炉中性子を照射すると, いずれの場合においても, 花色変異斑が高い頻度で出現することを確認した.

以上の実験と第1章のダイズを用いた実験結果から, 本章では, ダイズ, エンバク, イエギクの3者について, 放射線による体細胞突然変異の誘発率と誘発変異斑の葉位(または枝の位置)依存性に重点をおいて比較考察した. ここでは, 植物個体の細胞の放射線に対する変異感受性が, 種間で相違するか,

また，植物体の分化段階とどのように関連するかを中心に考察を試みた．


第2節 エンバクのアルビノ変異遺伝子*a*/ヘテロ接合体における

アルビノ突然変異斑の放射線誘発

(1) 材 料

使用したエンバクの「平衡致死」系統は、西山（1936）によって確立され、京都大学農学部遺伝学研究室で維持されてきたものである。

この系統は劣性アルビノ遺伝子（*a*）と劣性致死遺伝子（*l*）の二重ヘテロ接合体で、自家受粉で、アルビノホモ接合体、二重ヘテロ接合体および致死ホモ接合体をそれぞれ1 : 2 : 1で分離する（図20）。アルビノホモ接

	$a l + / + l \times a l + / + l$		
			
遺伝子型	$a l + / + l$ 二重ヘテロ	$a l + / a l +$ アルビノホモ	$+ l / + l$ 致死ホモ
子葉色	緑色	白色	白色
分離比 期待値	1	0.5	0.5
観察値	1	0.86*	

a : 劣性アルビノ遺伝子

l : 劣性致死遺伝子

+: 野生型対立遺伝子

* アルビノホモと致死ホモの区別ができないため、両者を合計した頻度。

図20. エンバクの「平衡致死」系統の自殖次代における二重ヘテロ接合体とアルビノホモ接合体・致死ホモ接合体の分離。

体と致死ホモ接合体（両者の区別はできない）は白色の子葉を伸長するが、ともに1週間ほどで枯死する。二重ヘテロ接合体は緑色の子葉を出芽し、成長する。a / 座位と / 座位の間での組換えは全く認められていない。

致死個体（アルビノホモと致死ホモの合計）と正常緑色個体（二重ヘテロ）のメンデル遺伝による分離比の期待値は1 : 1となる（Nishiyama, 1941）。

アルビノヘテロ接合体の自家受粉から得た種子を蒔いて、子葉鞘が出現した時点で、致死個体（アルビノホモと致死ホモの合計）と正常緑色個体（二重ヘテロ）を別々に計数した結果、前者の観察数の後者の観察数に対する相対比は、1 : 0.86となった。ホモ接合体とヘテロ接合体の分離比の χ^2 検定の結果、 $\chi^2 = 11.6$ 、 $df = 1$ で $p < 0.001$ となった。分離比に有意な差があったのは、表12より、実験区5を除いて、劣性ホモ接合体がヘテロ接合体に比べて比較的発芽率が悪かったためであると思われる。

表12. エンバクの二重ヘテロ接合体の自殖次代の種子の発芽時におけるアルビノ個体（ホモ接合体）と緑色個体（二重ヘテロ接合体）の観察数

実験区	播種数	個体数			相対比 A/B
		発芽合計	ホモ接合体 A	ヘテロ接合体 B	
1	800	776	382	394	0.97
2	300	240	107	133	0.80
3	300	272	116	156	0.74
4	300	254	124	130	0.95
5	300	262	139	123	1.13
6	300	252	115	137	0.84
7	300	281	123	158	0.78
8	300	263	107	156	0.69
合計	2900	2600	1213	1387	

(2) 実験方法

a. 照射, 播種, 栽培

実験に用いた乾燥種子は、1985年に京都大学農学部常脇恒一郎教授より譲り受けたものである。

乾燥種子（平均重量0.013 g/粒）にX線あるいは中性子を照射した後、直ちに播種した。野外で約6週間育苗し、第4葉あるいは第5葉が展開した時点で、すでに枯れている第1葉を除くすべての葉を観察して、アルビノ変異による白縞を肉眼で観察した（図21）。

種子の照射は、直径6 cmのプラスチックシャーレにエンバク乾燥種子を800粒入れて行った。X線、原子炉中性子および1.4 MeV中性子による種子の照射と線量測定は、何れも第1章第4節のダイズ乾燥種子の場合と同様に行った。Ikushima (1972)が測定したエンバクの乾燥種子の元素組成は、第1章の第4節に示したダイズの元素組成とはほぼ等しかったので、エンバクの中性子

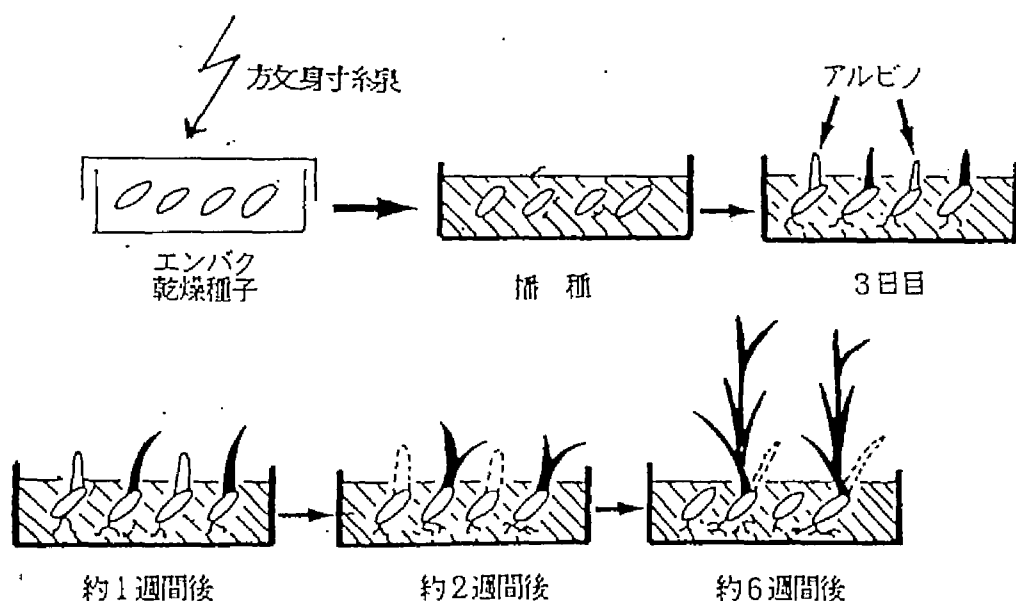


図21. エンバク乾燥種子の照射と育苗。

フルエンス F をエンバク組織吸収線量に換算する係数 k はダイズの値 k_{st} を使った。

b. 変異斑の頻度とサイズの測定法

アルビノ変異斑頻度は次式に従って、観察した葉の数に対するアルビノ変異斑の数として求めた。

$$\text{変異斑頻度} = [\text{変異斑の数}] \div [\text{観察した葉の数}] \quad (8)$$

また、アルビノ変異斑の相対サイズは次式に従って、全葉幅に対するアルビノ変異斑幅の相対サイズ (%) として求めた(図 2 2)。

$$\text{変異斑相対サイズ (\%)} = [\text{変異斑幅}] \div [\text{全葉幅}] \times 100 \quad (9)$$

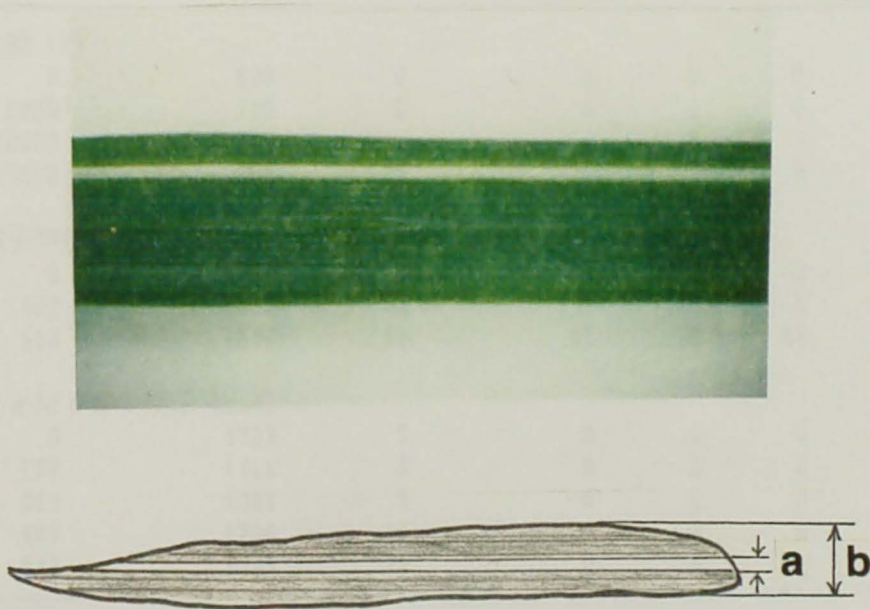


図 2 2. エンバクアルビノ変異斑 (白縞) と変異斑相対サイズ $[(a/b) \times 100]$ の定義.

(3) 実験結果

a. エンバクにおけるX線と中性子によるアルビノ変異斑頻度の

増加と線量の関係

第2葉から第4葉あるいは第5葉まで観察した葉の総数と検出されたアルビノ変異斑の総数(表13)から、それぞれの線量での変異斑頻度を求めた(図23)。X線照射の場合、5000Rでは変異を誘発せず、10000R以上の線量域で顕著な変異斑誘発効果を示した。中性子照射の場合、使用した最高線量まではほぼ直線的な変異斑頻度線量関係が認められた。

表13. 二重ヘテロ接合体のエンバクの乾燥種子をX線あるいは中性子で照射した場合の各葉位(第2葉から第5葉)におけるアルビノ変異斑(白縞)の出現数

放射線の種類 と線量	観察した 葉の総数	出現した 変異斑の総数	変異斑の出現数			
			第2葉	第3葉	第4葉	第5葉
X線 (R)						
0	820	0	0	0	0	- ^{a)}
5000	723	0	0	0	0	-
10000	1861	9	1	2	6	-
15000	908	17	3	5	9	-
原子炉中性子 (rad)						
0	1710	0	0	0	0	-
322	1566	33	7	23	3	-
645	1536	61	11	38	12	-
1.4 MeV中性子 (rad)						
0	1223	0	0	0	0	0
137	1418	5	0	2	2	1
262	1361	5	0	0	3	2
467	1200	14	0	3	6	5
633	1343	25	0	9	11	5

a) 調査せず。

b. X線と中性子のアルビノ変異斑誘発率の比較

アルビノ変異斑頻度と線量の関係を(5)式の直線に回帰させて、変異斑誘発率を求めた(表14)。このb値の比較より中性子のX線に対する生物効果比(RBE)を求めた。表14に示したように、生物効果比は原子炉中性子で5.2、1.4 MeV中性子で2.4となった。

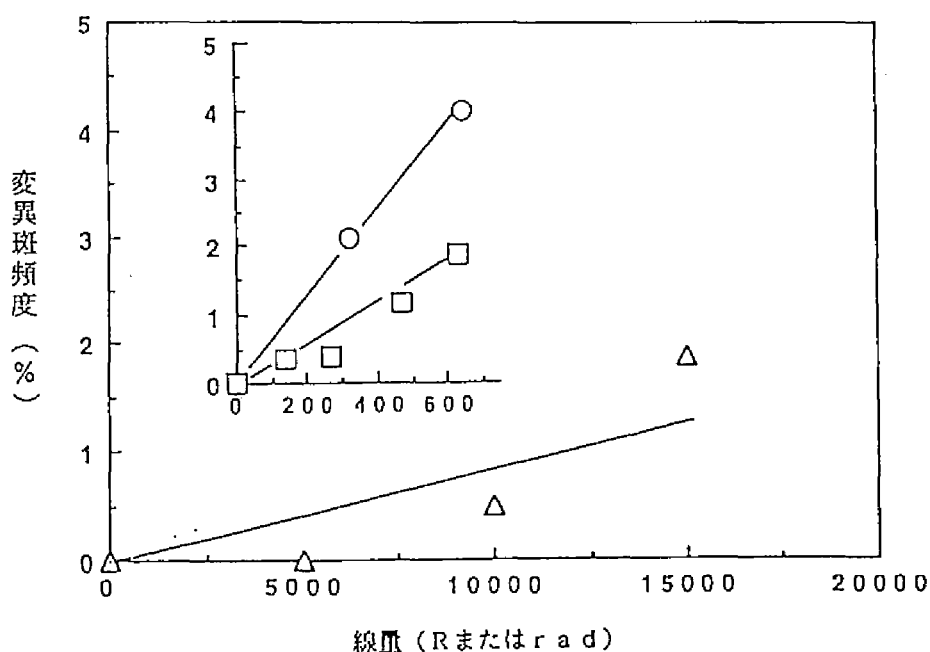


図23. エンバクのアルビノ変異斑頻度とX線あるいは中性子の線量との関係。
X線線量はR, 中性子線量はradで示す。
△: X線, □: 1.4 MeV中性子, ○: 原子炉中性子

表14. エンバク乾燥種子にX線，原子炉中性子および14MeV中性子を照射した場合のアルビノ変異斑誘発率と中性子のX線に対する生物効果比

変異斑	誘発率b ($\times 10^{-6}$) (変異斑数/葉/rad)			生物効果比 (b_n/b_x)	
	X線	原子炉 中性子	14MeV 中性子	原子炉 中性子	14MeV 中性子
	b_x	b_n	b_n	b_n/b_x	b_n/b_x
アルビノ変異	1.2 \pm 0.4	62 \pm 2.1	29 \pm 3.9	52 \pm 17	24 \pm 8.7

c. 放射線誘発アルビノ変異斑の発生頻度の葉位間の比較

各放射線の最高線量で各葉位（第2葉から第4葉あるいは第5葉）のそれぞれで誘発されたアルビノ変異斑の頻度を図24に示した。この図から明らかに、いずれの放射線による照射でも、第2葉で最も低い変異斑頻度が記録された。特に、14MeV中性子では変異斑は誘発されなかった。最高頻度は第3葉あるいは第4葉で認められた。最高頻度と最低頻度の比は、X線照射群で4，原子炉中性子の照射群で3であった。第3葉から第4葉にかけて、変異斑頻度は、放射線の種類によって、増加したり、減少したりしており、一定の傾向を示さなかった。14MeV中性子の照射実験では第5葉まで調べたが、そこでの変異斑頻度は第4葉での頻度のおよそ半分であった。

d. 放射線誘発アルビノ変異斑のサイズの葉位間の比較

各葉位（第2葉から第5葉）のそれぞれについて、放射線の種類，線量に関わりなく、誘発されたアルビノ変異斑を，サイズ2.5%以下，2.5～5.0%，5.0～10%，10%以上の4クラスにわけて，各クラスの変異斑数の全

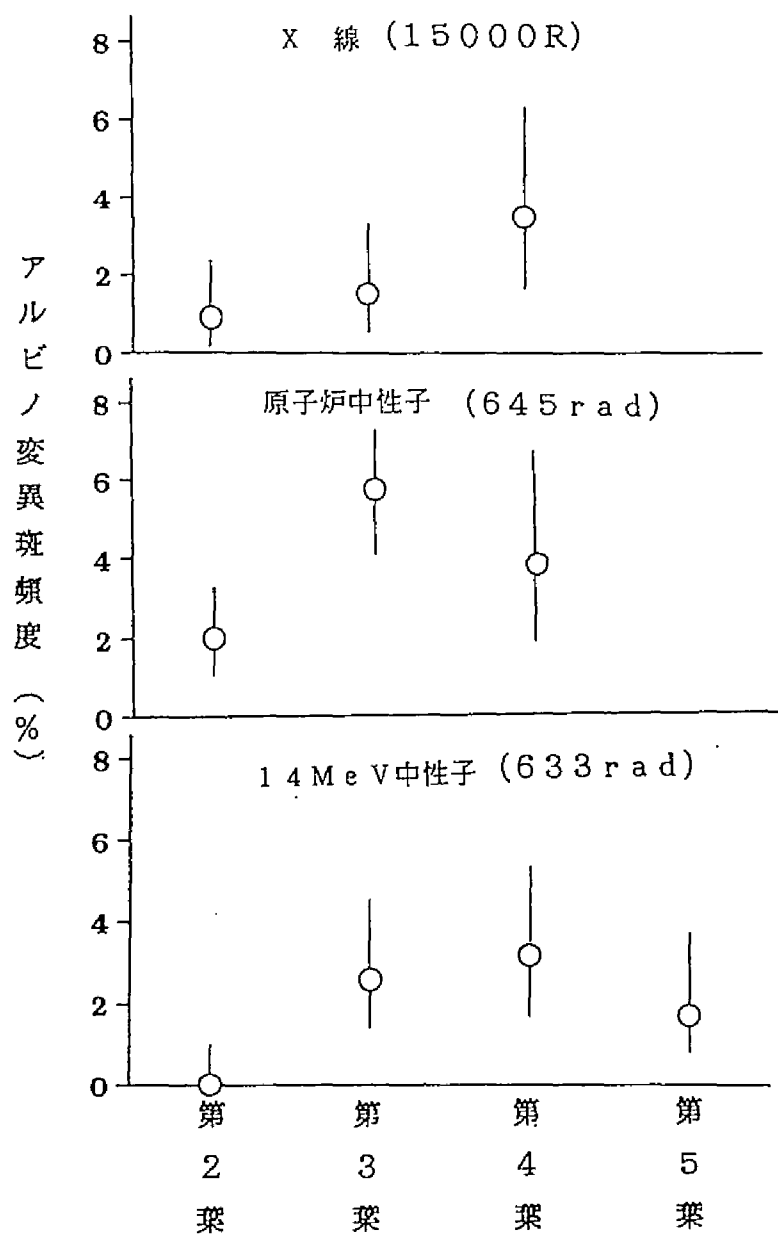


図24. エンバクの第2葉から第5葉の各葉位において誘発されたアルビノ変異斑の頻度。縦棒は95%信頼限界を示す。

変異斑数に対する割合を求めた。各クラスの割合を図25に示す。第3葉と第4葉のサイズの分布はほとんど一致し、5.0～10%のクラスが最も高い相対比を示した。第5葉でも5.0～10%のクラスが最も高い割合を示した。ここでの分布は第3葉と第4葉での分布に比べて、10%以上のクラスの割合が増加し、2.5%～5%のクラスの割合が減少し、サイズの増大傾向を示した。第2葉では2.5～5%のクラスが最も高い割合を示し、大部分の変異斑が2.5～10%の範囲内に含まれるという点では、第3葉、第4葉、第5葉の結果と一致した。

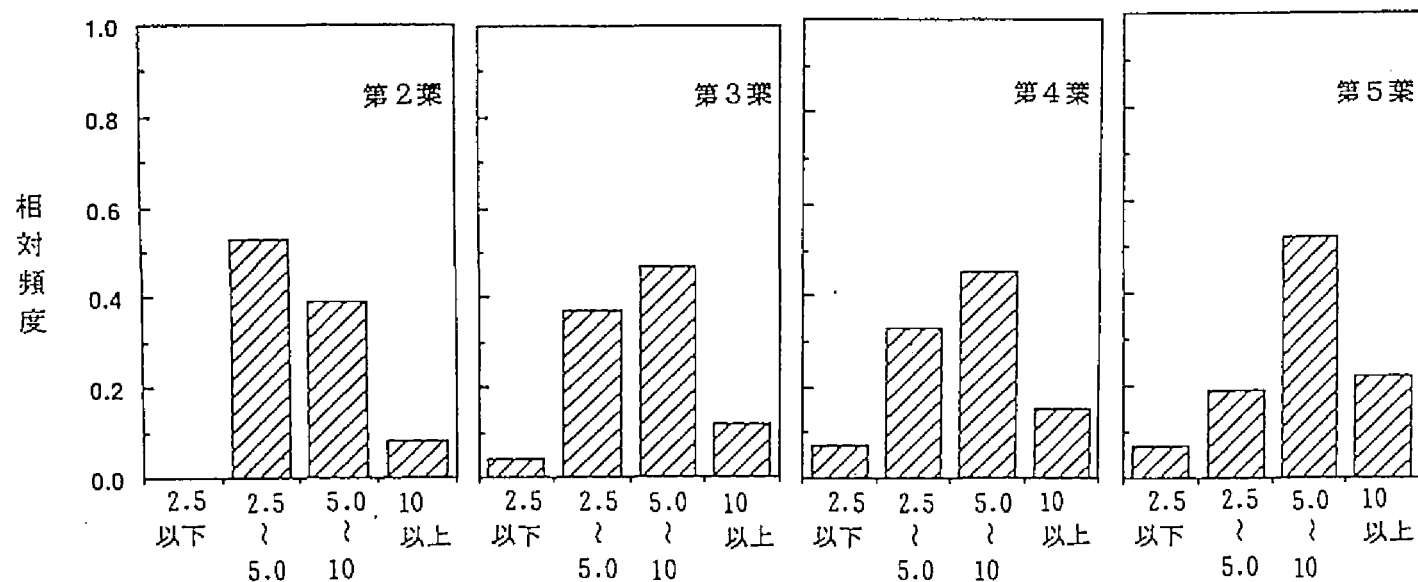


図25. エンバクの第2葉から第5葉の各葉位において誘発されたアルビノ変異斑の相対サイズ(変異斑幅/全葉幅×100)の分布.
縦軸は全変異斑数に対する各クラスの変異斑数の比率.

第3節 イエギクの花色突然変異

(1) 材 料

精興園（広島県芦品郡）より分与されたイエギク *Chrysanthemum morifolium* Ram. ($2n=6x=54$) のスプレーギク品種「セイローザ」の挿し穂を使用した。「セイローザ」では挿し穂の放射線照射によって花色の異なる系統がいくつか得られている。実験に使用した株は、これら系統分離の母体となった、ピンク系「セイローザ」である。その茎は5～10本の小枝に分かれ、その各々に頭状花序をつける。

(2) 実験方法

a. 照射、挿し穂、栽培

春に摘み取った挿し穂を約1週間4℃の冷蔵庫で保管した後、照射実験に供した。

展開葉を5枚前後もつ約5cmの挿し穂にX線あるいは原子炉中性子を照射した。照射直後、川砂を敷き詰めた挿し床に挿し芽し、灌水した。挿し床は、挿し穂に直射日光があたらないように、シェードで覆った。約4週間後、発根した個体を定植し、露地栽培を開始した。側芽の成長を促し、より多くの花芽をつけさせる目的で、約8週間後以降、3週間おきに3～4回摘芯した（図26）。約25週間後に形成されたすべての頭状花序が展開した時点で、花色変異を調べた。

X線の照射には、第1章第5節のダイズの種子照射と同様に近畿大学原子力研究所のX線発生装置（日立メディコ社製）を使用した。照射条件は、電圧140kVp、電流4mA、1mmアルミニウムフィルターとした。照射線量は、約50R/分で、ビクトリン線量計を用いて測定した。

イエギク挿し穂の中性子の照射には、近畿大学原子炉を使用した。照射は、
図2に示す生物照射場の中央に挿し穂の試料をビニール袋（1袋：約50本）
に入れて行った。

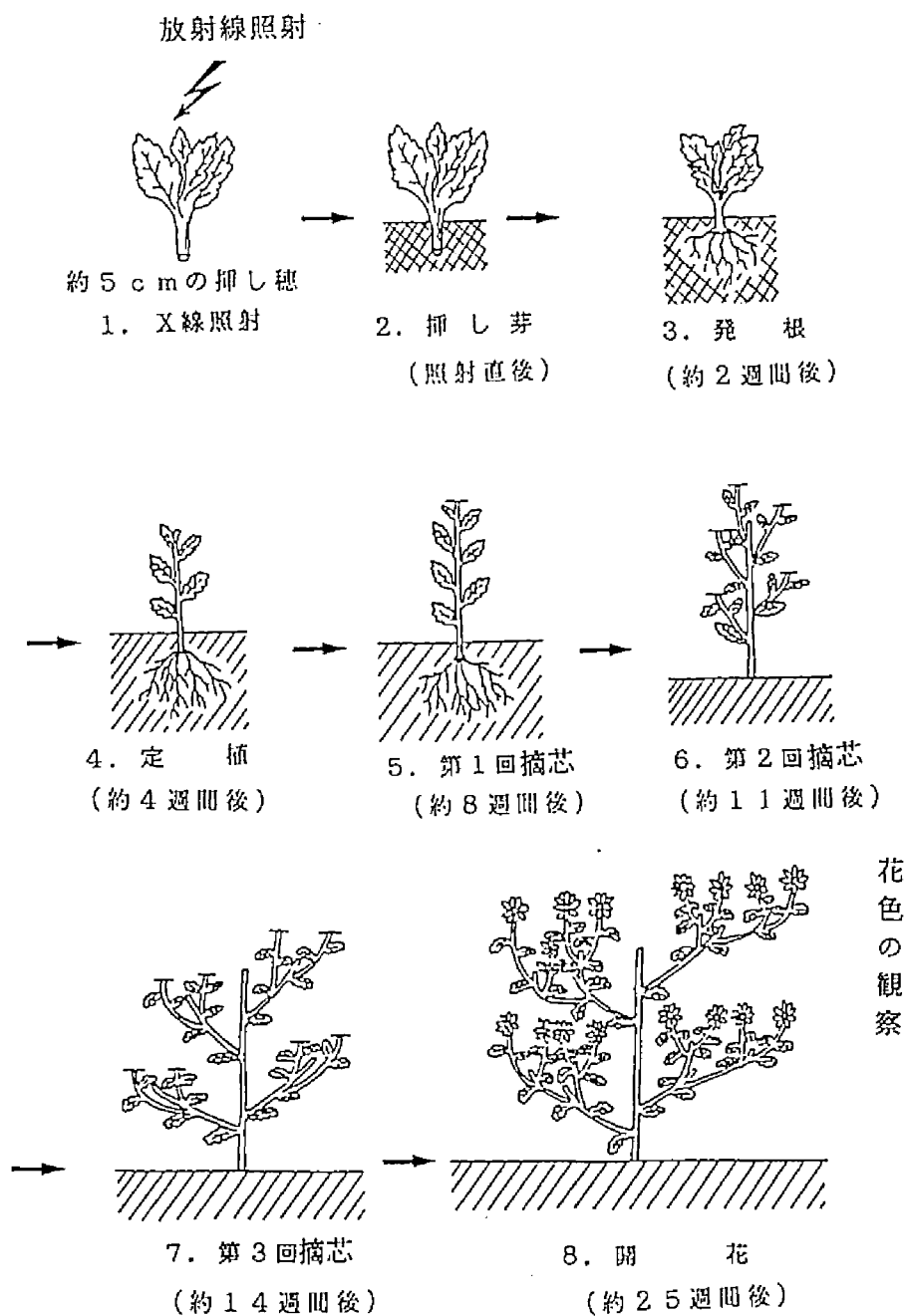


図26. イエギク挿し穂の照射と育苗.

原子炉生物照射場の線量率は，第1章第5節のダイズの吸水種子の照射と同様の方法で計算した。

b. 観察

非照射対照群のピンク色の頭状花序の花色と異なるオレンジ系頭状花序を花色変異斑とみなし（図27），その植物体の枝分かれの様子と変異頭状花序の数と出現位置を観察した。



図27. イエギクのオレンジ系花色変異.

(3) 実験結果

a. 花色突然変異の変異斑のサイズ分布

変異頭状花序には、オレンジ色の変異斑が舌状花全体に現れる全体型と花の一部の花弁に局在して現れる部分型の2型がみられた。非照射対照群では、約13000の頭状花序において1個変異がみられ、それは部分型であった(表15)。

全体型変異花序は放射線で多発したが、その変異花序の相対サイズ(同じ株の全花序数に対する変異花序数の割合)は、6%から56%まで大きい変異を示した。

表15. ピンク系「セイローザ」のイエギク挿し穂のX線あるいは中性子の照射によってオレンジ系全体型花色変異斑が誘発された株と変異頭状花序の観察数

放射線の種類 と線量	花色変異した株数 ／観察株数	変異頭状花序数 ／観察頭状花序数
0	0/309	0/13073
X線 (R)		
500	3/108	33/4748
1000	7/111	78/4805
1500	16/104	248/3972
原子炉中性子 (rad)		
16	3/250	14/10222
32	8/393	68/17400
64	19/350	117/13721

b. 花色変異斑の頻度とX線または中性子の線量の関係

花色変異斑の頻度(%)は次式に従って、調査した頭状花序の数に対する変異頭状花序の数として求めた。

$$\text{変異斑頻度 (\%)} = \frac{[\text{変異頭状花序の数}]}{[\text{調査した頭状花序の数}]} \times 100 \quad (10)$$

図 2 8 に全体型変異斑の頻度と線量の関係を示している。X線照射では花色変異頻度が1000 Rまでほぼ直線的に増加し、1500 Rではこの直線性から期待される頻度の約3倍の変異が誘発された。中性子の照射では使用した最高線量64 radまでほぼ直線的に増加した。

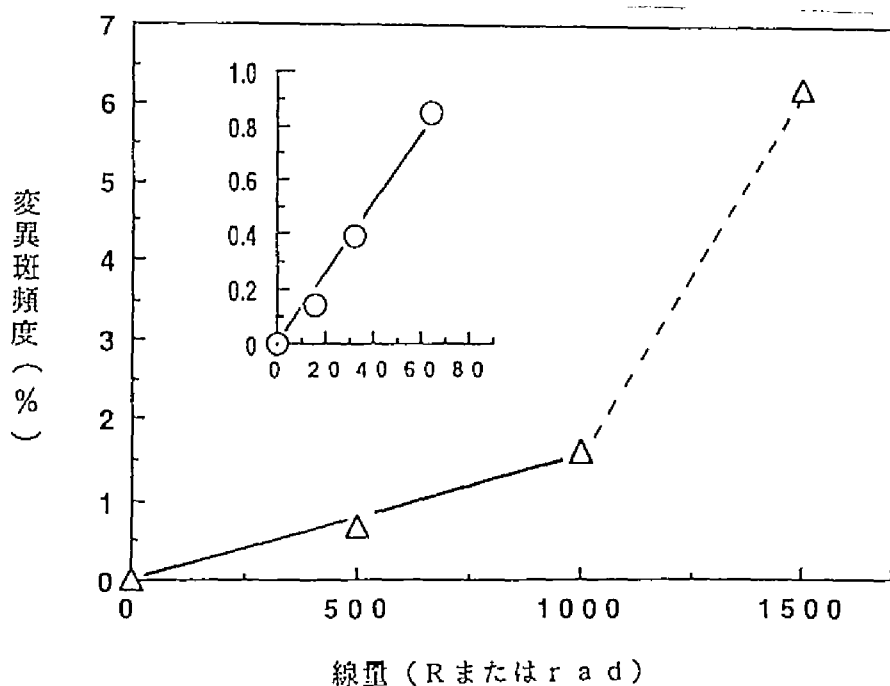


図 2 8. 全体型変異頭状花序の頻度と X 線あるいは中性子の線量との関係。
実線は回帰直線を示す。X 線は R，中性子は rad で示す。
△：X 線，○：原子炉中性子

c. X線と中性子の突然変異斑誘発率の比較

全体型花色変異斑の頻度と線量の関係を示した図28の直線は、(5)式の直線に回帰させて求めた。ただし、X線の照射については、1000Rまで直線が成り立つものとした。表16に誘発率bを示した。

中性子とX線の突然変異誘発力を比較するため、X線に対する中性子の生物効果比を求めた。その結果、原子炉中性子の生物効果比は8.8となった(表16の最後の欄)。

表16. イエギク挿し穂をX線と原子炉中性子で照射した場合の花色変異斑誘発率(／rad)と中性子のX線に対する生物効果比

花色変異型	誘発率 b ($\times 10^{-4}$)		生物効果比 (b_n/b_x)
	X線 b_x	原子炉中性子 b_n	
全体型変異	0.16 ± 0.01	1.4 ± 0.09	8.8 ± 0.79

第4節 考 察

植物個体に放射線を照射したあとで発生する個体特性の突然変異は、ほとんどが、モザイク型、すなわち、個体を構成する細胞の一部のみの変異である。ここでは、本研究で調べたダイズ、エンバク、イエギクの放射線誘発変異斑の特色を、次の4点にしばって、比較検討をする。(1) 変異斑誘発率(見かけ上の変異誘発率)、(2) 変異斑の大きさ、(3) 変異斑の出現部位の分布様式、(4) 標的遺伝子座あたりの誘発率(真の変異誘発率)。

(1) ダイズ、エンバク、イエギクにおけるX線による変異斑誘発率 b_x の比較

ダイズの場合は、第1章で詳述したように、播種後1日目の個体にX線を中程度の量(200R)照射すると、そのあとで成長した淡緑色葉の中に、黄色の変異斑が多発した。しかし、エンバクの場合は、本章第2節にのべたように、乾燥種子にX線を超大線量(10000R以上)照射して始めて、緑色葉に白縞の入ったものが、かなりの頻度で出現した(第2章第2節)。イエギクの挿し穂の場合は、本章第3節でのべたように、X線の大量(1000R)照射により、ピンク花序群の中にオレンジ花序群が出現した変異株が多発した。

上述の3種の植物のX線に対する「見かけ上の体細胞変異感受性」を定量的に比較するため、変異斑誘発率を前述の資料から抜粋すると、表17の第5欄のようになる。ここでは、変異斑誘発率 b_x を次のように定義している。

変異斑誘発率 (b_x) = [照射後の変異斑頻度(葉1枚あたりの変異斑の数、または、変異花序を持つ株の割合) - 自然変異斑頻度] ÷ X線量(R単位)

(11)

表17. ダイズ, エンバク, イエギクにおけるX線による体細胞突然変異斑誘発率の比較

材 料	遺伝特性	照 射	変異斑の特性	変異斑誘発率 b_x (変異 斑数/葉または株/R)	備 考
ダイズ	Y_{11}/y_{11}	乾燥種子	淡緑色葉上の黄色斑	1.2×10^{-4}	第1本葉 (表3より)
		播種後1日目	淡緑色葉上の黄色斑	1.3×10^{-3}	第1本葉 (表10より)
		播種後3日目	淡緑色葉上の黄色斑	2.0×10^{-2}	第1本葉 (表10より)
エンバク	$+/a1$	乾燥種子	淡緑色葉上の白縞斑	1.2×10^{-6}	第2葉~第4葉の平均 (表13より)
イエギク	6倍体 詳細不明	挿し穂	ピンク花序群中の オレンジ花序群	6.3×10^{-6}	株単位 (表15より)

表17からわかるように、誘発率 b_x 値で比較すると、X線感受性は、ダイズの播種後1日目または3日目が最高で、つぎにダイズの乾燥種子とイエギクの押し穂が同程度で、エンバクの乾燥種子が最低である。しかし、この誘発率 b_x の値は、変異した遺伝子の真のX線感受性を反映していない。なぜなら、第1章第6節で詳述したように、 b_x 値は、植物の成長初期には小さく、成長とともに増大する（表17の播種後1日目と3日目の b_x 値参照）。「真のX線感受性」を求めるためには、変異斑サイズを考慮しなければならない。なぜなら、誘発頻度の増加に逆比例して、変異斑サイズが減少する事実が、ダイズで証明されている（表11）からである。

（2）ダイズ、エンバク、イエギクの放射線誘発変異斑サイズの比較

ダイズの y_{11} 遺伝子のヘテロ（ $Y_{11}y_{11}$ ）接合型種子を蒔いてから1日目～3日目の実生にX線200R照射した。第1本葉が成長して、それに発生した黄色変異斑の相対サイズ（[変異斑の面積] ÷ [葉の面積] × 100）は、図29に実例で示すように、0.03%から36%の広がりを示した。変異斑の平均相対サイズは、表18に示すように、播種後1日日照射で約2%、播種後3日日照射で0.2%であった（詳細は1章6節）。

エンバクの場合は、変異斑は白縞で、その相対サイズ（白縞の幅と葉の幅の比）は、図30に示したように、3.6%から12%と、せまい幅の中におさまリ、平均相対サイズは約8%であった（表18）。

イエギクの場合の変異斑の相対サイズは、図31に示すように、6%から56%の広い幅を示した。平均相対サイズは約20%であった（表18）。



3%



36%



6%



5%



0.03%

(変異斑15個)



(a)



(b)



(c)

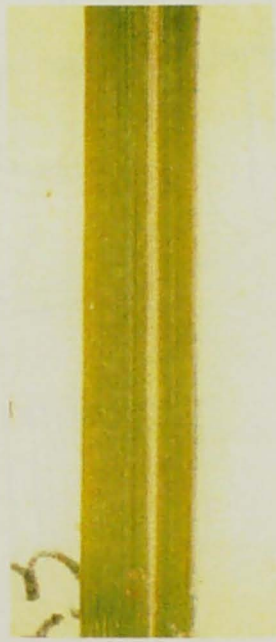


(d)

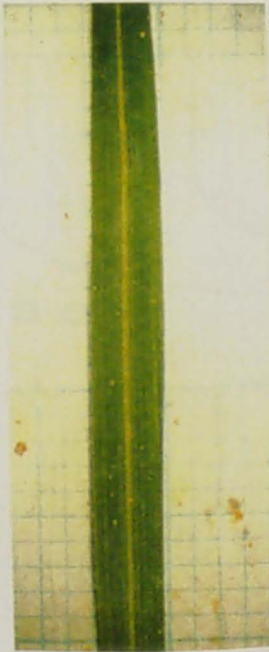
図29. ダイズで観察された葉色変異斑の相対サイズ(例示).
 (d)では15個の変異斑を観察. 全葉面積 980 mm^2 に対し,
 15個の変異斑の平均サイズは 0.3 mm^2 .
 従って, 変異斑の相対サイズは $(0.3/980) \times 100 = 0.03\%$.



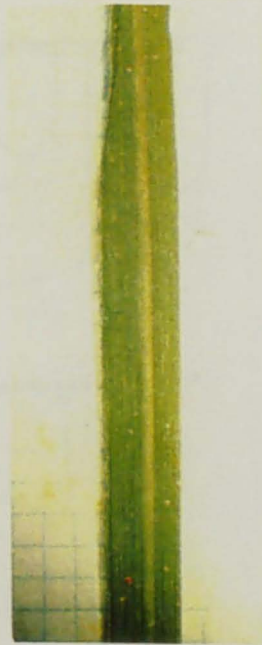
3.6%



7%



9%



12%

図30. エンバクで観察されたアルビノ変異斑の相対サイズ（例示）.

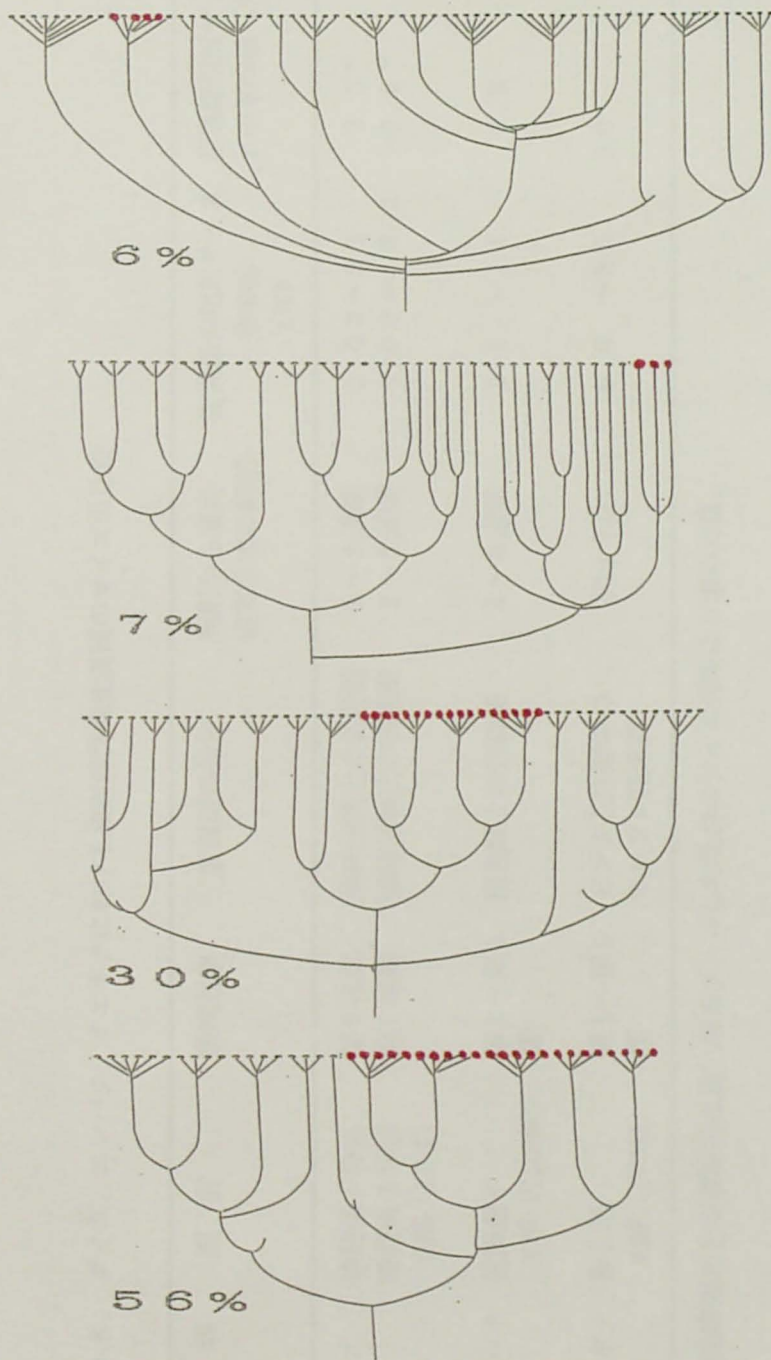


図31. イエギクで観察された花色変異斑の相対サイズ(例示).
全頭状花序(白)に対する変異頭状花序(赤)の割合(%)を示す.

表18. ダイズ, エンバク, イエギクにおける放射線誘発変異斑のサイズの比較

材 料	照 射	観察対象	変異斑の特色	照射から変異 観察までの期間	変異斑の相対サイズ 分布幅 (%)	変異斑相対サイズ r の平均値 (%)
ダイズ	播種後1日目	第1本葉	淡緑色葉上の黄色斑	2~3週間	0.03~3.6	2.0 ^{a)}
	播種後3日目 X線 (200R)	第1本葉	淡緑色葉上の黄色斑	2~3週間	0.03~ 3.2	0.2 ^{a)}
エンバク	乾燥種子 X線 (15000R)	第2~第4 葉	緑色葉上の白縞斑	4~6週間	3.6 ~15	7.8
イエギク	挿し穂 X線 (1000R)	第1~第5 枝	ピンク花序群中の オレンジ花序群	約6カ月	6.8 ~56	20

a) 淡緑色葉上の濃緑斑と黄色斑をプールした場合のサイズ分布より求めた値.

(3) ダイズ、エンバク、イエギクにおける放射線誘発変異斑の分布形態の
葉位または枝位間の比較

ダイズのヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合体の播種後1日目にX線照射した場合、
単葉、第1、第2本葉に、それぞれ出現した黄色変異斑の数の割合(%)は、
単葉が96%と圧倒的に多く、第1、第2本葉ではわずか3%と1%にすぎな
かった(表19)(第1章第6節)。

エンバクのヘテロ ($+/a1$) 接合型種子にX線照射したあとで、第2～
第4葉のそれぞれ出現した白縞の数の分布(相対割合、%単位)は、17、
30、53となり、ダイズのように葉位による劇的変化は見られなかった(表
19)(第2章第2節)。

イエギクの挿し穂は、X線を1000R照射した直後に植えてから、約6
ヶ月たって開花した。約100株の中で、7株が変異したオレンジ花序をつけ
た。これらの7個の変異花序斑のサイズの最大は全花序群の約56%に、最小
は6%までの変異を示した(図31)(第2章第3節)。

イエギクの変異枝の発生分岐位置をつぎのようにして推定した。挿し穂は
成長につれて、第1分岐で2本の枝に、第2分岐で2²本の枝に、・・・第5分
岐では2⁵本の枝になると仮定する。そうすると、変異斑の相対サイズ50%の
変異斑は、第1枝位で発生し、サイズ25%の変異斑は第2枝位で、・・・サイ
ズ6%の変異斑は第4枝位で、それぞれ発生したことになる。この方法で、イ
エギクの花序変異斑のサイズと分岐形態のデータ(図31参照)を解析すると、
変異の発生した枝は、第1枝位から第4枝位まで、ほぼ一様な頻度分布になっ
た(表19)。

播種直後または直前のX線照射により、葉が成長した後で出現する変異斑
の頻度が、ダイズでは、単葉で最も高く、第1、第2本葉では著減したのに反
し、エンバクでは、第2～第4葉間であまり変動しなかった(表19)。

表19. ダイズ, エンバク, イエギクにおける放射線誘発変異斑の出現割合の葉位または枝位依存性

材 料	照射条件	変異斑の特色	観察した変異斑 の数	変異斑の出現頻度 (%)				資 料
				葉位または枝位				
				第1	第2	第3	第4	
ダイズ	播種後1日目	淡緑色葉上の黄色斑	232	96 ^{a)}	3 ^{a)}	1 ^{a)}	観察せず	表10
	播種後3日目 X線 (200R)	淡緑色葉上の黄色斑	1405	97 ^{a)}	2 ^{a)}	1 ^{a)}	観察せず	表10
エンバク	乾燥種子 X線 (15000R)	緑色葉上の白縞斑	17	観察せず	17 ^{b)}	30 ^{b)}	53 ^{b)}	表13
イエギク	挿し穂 X線 (1000R)	ピンク花序群中の オレンジ花序群	7	29 ^{c)}	14 ^{c)}	14 ^{c)}	43 ^{c)}	

a) 第1, 第2, 第3 は単葉, 第1本葉, 第2本葉を意味する.

b) 第2, 第3, 第4 は第2葉位, 第3葉位, 第4葉位を意味する.

c) 挿し穂の成長過程で, 第1分岐で2¹本, 第2分岐で2²本・・・第4分岐で2⁴本の枝になると仮定して, 変異サイズ50%の変異斑は第1枝位, 約25%のものは第2枝位, 約12%のものは第3枝位, 約6%のものは第4枝位とした.

この植物種間の違いは、次のように解釈できる。ダイズ種子内では、単葉原基の分化は完了に近く、第1、第2本葉の原基は未分化であるため、原基細胞数、従って、X線誘発変異を起こす「標的細胞（X線が当たると変異を起こす可能性のある細胞）の数」が、前者では後者より桁違いに多い。エンバク種子内の第2～第4葉の原基の分化は、同程度であるため、X線誘発変異の「標的細胞数」は第2～第4葉まではほぼ等しいものと考えられる。しかし、この解釈は、エンバクの乾燥種子の胚では、第1葉と第2葉の原基は明瞭に分化しているが、第3葉以降の葉の原基は組織学的に認識できるほど分化していないという報告（Ichikawa and Ikushima, 1972）と矛盾する。本研究では、幅の測定が困難な程小さな白縞を変異斑として記録しなかったことが、この矛盾の主因と思われる。第1葉は、第4葉が展開した時点で枯れていたため観察できなかった。

イエギクの挿し穂では、花序原基は未分化段階にある。このため、照射から開花まで6カ月もの長期間を要する。従って、この未分化状態のX線照射で発生した「変異細胞」は、その後の挿し穂の成長にともなって、同族繁殖（クローン拡大）し、その仲間のある1部が、花序原基の形成に参加し、開花時に、オレンジ色に変異した花序を形成するものと想像される。変異細胞の花序原基形成への参加は、偶然によるとすれば、変異花序斑の発生が、第1枝位～第4枝位間に、広く分布している事実（表19）と矛盾しない。しかし、観測した変異斑は7つに過ぎないから、決定的証明は今後の課題である。

（4） ダイズ、エンバク、イエギクの体細胞におけるX線変異感受性

の遺伝子レベルでの比較

放射線照射で1個の変異細胞が発生したときの標的組織は、 n 個の細胞から構成される原基であったとすると、変異斑頻度 F と線量 D （R）の間に直線関係がある場合は、次式が近似的に成り立つと考えられる：

$$F = F_0 + \beta nD = F_0 + bD \quad (12)$$

ここに、 F_0 は変異斑の自然出現頻度、 β (／遺伝子座／R) は標的遺伝子の変異誘発率で、右辺の第2式の b は変異斑の誘発率である。後者は、X線の場合に、表17で b_x (変異斑誘発頻度／R) と記載したパラメータである。

放射線照射により、 n 個の細胞の1つが変異したとすると、変異細胞が正常細胞に比べ同等の増殖率を持っている場合は、原基に発生した「変異細胞：全細胞数 = 1 : n 」の関係は、原基が成熟し、変異斑が観測される状態まで保持されるであろう。従って、次の理論式が成り立つ：

$$r \text{ (放射線誘発変異斑の相対サイズ)} = 1/n \quad (13)$$

$$\beta = (F - F_0) / (nD) = r (F - F_0) / D = rb \quad (14)$$

式(14)が成り立つことは、ダイズのヘテロ ($Y_{II} y_{II}$) 接合体種子播種後1日目と3日目のX線照射実験で証明した(表11参照)。

エンバクやイエギクでも式(14)が成立すると仮定すると、表17の b 値と表18の r 値をこの式に代入して、ダイズ、エンバク、イエギクの体細胞遺伝子の変異誘発率 β を、表20のように求めることができる。

表20によれば、ダイズの播種後1日目のヘテロ接合型体細胞 ($Y_{II} y_{II}$) の葉緑素遺伝子 Y_{II} のX線による欠失突然変異(黄色斑を誘発)は、イエギクの花色をピンクからオレンジにする遺伝子突然変異の2倍の感受性である。ヘテロ体細胞 (Y_{II} / y_{II}) の半優性突然変異遺伝子 y_{II} に挿入された仮想的トランスポゾンの除去による Y_{II} への復帰突然変異率は、 Y_{II} の欠失突然変異率

表20. ダイズ, エンバク, イエギクにおける体細胞遺伝子のX線感受性の比較

材 料	遺伝特性	照射条件	変異斑の特性	変異斑の誘発率 ($F - F_0$) / D	変異斑の相対 サイズ r	変異誘発率 (γ 遺伝子座 / R) β
ダイズ	Y_{II} / y_{II}	乾燥種子	淡緑色葉上の黄色斑	1.2×10^{-4}	(0.02) ^{a)}	2.4×10^{-6}
		播種後1日目	淡緑色葉上の黄色斑	1.3×10^{-3}	0.02	2.6×10^{-6}
		播種後3日目	淡緑色葉上の黄色斑	2.0×10^{-2}	0.002	4.0×10^{-6}
エンバク	$+ / a1$	乾燥種子	淡緑色葉上の白縞斑	1.2×10^{-6}	0.078	9.4×10^{-8}
イエギク	6倍体 詳細不明	挿し穂	ピンク花序群中の オレンジ花序群	6.3×10^{-6}	0.2	1.3×10^{-6}

a) 播種後1日目の相対サイズの値を用いた。

の約半分（表5 参照）であるので、このトランスポゾン除去率はイエギクの花
色変異率と等しいことになる。イエギクの花色変異にもトランスポゾンが関与
しているのかもしれない。事実、イエギクの花色変異は、中性子に対し、X線
の約9倍の高感受性（表16）で、これは吸水種子での $y_{11} \rightarrow Y_{11}$ 変異の中性
子に対する高感受性約8倍（表8）とかなりよく一致している。

ダイズの乾燥種子の体細胞遺伝子は、ダイズの播種後1日目の遺伝子より、
X線誘発変異率が約10倍低い（表20）。同じ乾燥種子の遺伝子でも、エン
バクの葉緑素遺伝子がアルビノに変異する率（表20）は、ダイズの Y_{11} 遺伝
子の欠失変異誘発率（表20）の $1/25$ に過ぎない。

他方、Nishiyama et al. (1964) は、ガンマ線によるアルビノ変異斑の観察
値に基づいて、 $\beta = 5 \sim 9 \times 10^{-7} / R$ と報告している。これは、本論文の値
より5～9倍も大きく、ダイズの欠失変異率にかなり近い。本論文におけるエ
ンバクの変異斑の判定法に問題があったように思われる。なぜなら、表20の
エンバクの β 値は、アルビノ斑（白縞）のごく細いものまで加えると、本実験
値の2倍になった。しかし、Nishiyamaらの β 値との間に依然として違いが残る。

Stadler (1929) によれば、休眠種子のX線照射によるコムギの継代遺伝性
の葉緑素突然変異の誘発率（ $/R$ ）は 1×10^{-6} である。彼がコムギで検出し
た変異体の50%がアルビノであるので、アルビノ遺伝子の継代遺伝性欠失変
異の誘発率はコムギで 5×10^{-6} （ $/$ 遺伝子 $/R$ ）と推定できる。ダイズ乾燥
種子のヘテロ接合型細胞の葉緑素遺伝子のX線による欠失変異誘発率 $2.4 \times$
 10^{-6} はこの β 値とかなりよく一致する。

総 括

本論文では、ダイズ、エンバク、イエギクを材料にして、放射線を照射したときに、葉の色や花の色が部分的に変化する様子を、遺伝学と個体発生学の両方の立場から実験的に研究した。得られた成果について、「ダイズを用いた実験の成果」と「ダイズ、エンバク、イエギクにおける変異特性の相違」に大別して、総括する。

A. ダイズのヘテロ ($y_{11}/+$) 接合体を用いた研究成果

(1) 変異斑の種類

ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型種子にX線を照射すると、播種後に成長する淡緑色葉上に、濃緑色と黄色の変異斑が多発する。ホモ ($y_{11}y_{11}$) 接合型種子を照射すると、黄色単葉上に淡緑色の変異斑が多発する。

(2) 突然変異の機構

(1) に述べた3種の変異斑は、いずれも、中性子照射の場合にX線の場合の約30倍高い頻度で発生した。放射線遺伝学の知識に照らして、この結果は、3種の変異斑はいずれも遺伝子の欠失突然変異に由来すると結論できる。この他の実験結果や知見に基づいて、変異斑を生みだした突然変異事象についての生成機構を次のように提唱する。

- (i) ヘテロ ($Y_{11}y_{11}$) 接合型葉上の黄色斑：この斑点は、細胞内の遺伝子 Y_{11} の欠失によって生まれる。これは、別の証拠から Vig and Paddock (1968) が提唱していた考えと一致する。
- (ii) 半優性突然変異遺伝子 y_{11} ：この変異遺伝子は、 Y_{11} 遺伝子の中か近傍に、 Y_{11} の活性を抑えるトランスポゾンが組み込まれたものである。
- (iii) ホモ ($y_{11}y_{11}$) 接合型葉上の淡緑色斑：この斑点は、細胞内の遺伝子

y_{II} からトランスポゾンが除去され、遺伝子 Y_{II} の活性が復活した細胞が発生するために生まれる。

(3) 誘発変異斑の頻度とサイズの逆比例関係

1～7日令のヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合型実生にX線照射すると、第1、第2本葉に出現する誘発変異斑は、照射時の日令の増加につれ、その頻度は指数関数的に増加し、そのサイズは指数関数的に減少した。頻度とサイズの積は一定という法則が、1～3日令照射の場合の第1、第2本葉上の変異斑で成立した。これ以外の場合、特に単葉の場合は、この積の値が小さかった。これは、検出不能な微小変異斑の多発が原因であるという実験的証拠を得た。

(4) 変異斑の形態に基づく葉原基の分化段階の推定

種子または1～7日令のヘテロ ($Y_{II}y_{II}$) 接合型実生に中性子またはX線を照射した場合、第1、第2本葉に発生する変異斑は、つぎの3種に大別できた。大型の変異斑には主脈型（変異斑が主脈を越えないが側脈を越えるもの）、中型のものには側脈型（側脈を越えないが2次脈を越える変異斑）、小型のものには2次脈型（2次脈を越えない変異斑）が多い。種子照射では主脈型が大半で、3日令の照射では側脈型が大半で、7日令照射ではほとんどが2次脈型であった。主脈を越える超大型変異斑は、乾燥種子の中性子照射で第6本葉以降に数例発生した。これらの実験結果は、次のような考えを支持する。休眠種子と1日令実生の、第1、第2本葉の原基では、主脈原基が形成されているが、側脈原基はほとんど未分化である。3日令になると、側脈原基の分化は葉原基のほぼ全域で完了している。2次脈は最後に発生するが、7日令には葉原基のほぼ全域でその分化が完了する。

B. ダイズ、エンバク、イエギクの放射線変異感受性の相違

(1) 変異斑の誘発率から遺伝子座あたりの誘発率への換算

ダイズの場合は、変異斑のX線誘発率 b （誘発頻度を線量 D で割った値）と変異斑の相対サイズ（変異斑の大きさ／葉の大きさ）の平均値 r の積 rb は一定になった〔Aの（3）参照〕。この rb が、1遺伝子座あたりの変異誘発率 β を与える。この β 値を得るため、エンバクやイエギクについても r 値を実測した。この推定には、変異斑の中から、1個の遺伝子の変異に由来するものだけを抽出して、それから b 値を計算することが必要である。

(2) ダイズ、エンバク、イエギクの体細胞におけるX線の変異誘発率

β （／遺伝子座／R）の比較

表20に3者の β 値をまとめて示した。ダイズの乾燥種子照射の場合の Y_{11} 遺伝子欠失変異の β 値は、2倍体コムギの葉緑素突然変異の誘発率（Stadler, 1929）に近い値である。ダイズ実生1日令照射の場合の Y_{11} 遺伝子欠失変異の β 値は、乾燥種子の場合の約10倍の高い値である。これは、よく知られている吸水効果（含水量の増加はX線感受性を高める現象）で説明できる。この場合の β 値は、イエギクの挿し穂照射の場合の花弁変異誘発率の約2倍である。ダイズ実生1日令照射による Y_{11} 遺伝子の復帰突然変異の β 値は、 Y_{11} 欠失変異の値の約1／2であるから、イエギクの花弁変異の β 値とほとんど一致する。これは偶然の一致である可能性もあるが、つぎのような仮説を、6倍体のキクの花弁変異の機構として考えることもできる。すなわち、使用したキクの系統では、色素生産関連遺伝子の1つの中または近くに、その遺伝子の活性を左右するトランスポゾンが組み込まれており、ダイズの半優性遺伝子 Y_{11} の復帰突然変異で考えたように（第1章第4節）、このトランスポゾンが放射線で除去されることにより、ピンク色の花がオレンジ色に変異するという機構である。

エンバクの白縞は、アルビノ遺伝子の野生型対立遺伝子 a^+ の欠失で起こると思われる。この場合の変異誘発率 β 値は、同じような乾燥種子照射条件下で、ダイズの Y_{11} における欠失変異誘発率 β 値の $1/25$ に過ぎない（表 20）。この違いのかなりの部分は、エンバクの白縞を数えるとき、細い縞を除外したためと思われるが、これで違いの全部を説明することはできない。

（３）ダイズではエンバクより放射線変異斑が多発する理由

ダイズ種子照射の場合、誘発される変異斑の数は、単葉が第 1、第 2 本葉の数 10 倍である。これは、照射時に存在する単葉原基内の細胞総数が第 1、第 2 本葉の原基の細胞総数より桁違いに多いからであると思われる。ダイズの種子はエンバクの種子より約 1.4 倍大きい。従って、ダイズの葉原基の細胞数もエンバクの葉原基の細胞数より桁違いに多いはずである。この違いが、エンバクに比べ、ダイズでは、放射線変異斑が桁違いに多発する主因であると思われる。

（４）ダイズ実生 1 日令照射とイエギク挿し穂照射の相違点

遺伝子座あたりの X 線変異誘発率 β 値は、ダイズ実生照射の場合とイエギク挿し穂照射の場合で、B の（２）と（３）に述べたように、ほとんど一致した。従って、ダイズとイエギクにおける放射線誘発変異斑の特性の基本的違いは、遺伝子レベルの違いではなくて、照射時の標的組織の分化状態の違いに由来する。すなわち、ダイズの場合の標的組織は、かなり分化した葉原基の細胞群であるが、イエギクの場合の標的組織は、花序原基が分化する以前の未分化細胞群である。イエギクの場合、放射線照射で発生した未分化の変異細胞は、数ヶ月かけて分化発達し、花序を構成し、花色変異斑を生み出す。この根本の違いは、実際に次のような 2 つの相違点として観察された。

- (i) X 線誘発変異斑の平均相対サイズの違い：変異斑の平均相対サイズは、ダイズでは 2 % と小さく、イエギクでは 20 % と大きい（表 18）。

(ii)変異斑の数の葉位／枝位間分布：ダイズ種子または実生1日令をX線照射すると、誘発変異斑の数の分布は、葉原基分化が突出して進んでいる単葉に90数%も集中し、分化段階が遅れている第1、第2本葉では3%、1%と激減した。これに反し、イエギクの変異花序の分布は、初期に分岐した第1枝と後期に分岐した第4枝に同程度に多く、中間期に分岐した枝は少な目であった。

謝 辞

本研究の実験と研究の取りまとめにあたって細部にいたるまでご指導を賜った京都大学農学部教授常脇恒一郎博士と近畿大学原子力研究所教授近藤宗平博士に衷心より感謝の意を表する。実験を始めるにあたり、ダイズの種子を供与いただき、実験遂行中数々のご指導を賜った国立遺伝学研究所の故藤井太郎博士、エンバクの種子を供与いただいた京都大学農学部教授常脇恒一郎博士、イエギクの挿し穂を提供していただいた精興園に対し深く感謝する。ダイズ種子の収穫にあたり京都大学農学部教授阪本寧男博士、近畿大学農学部教授衣川堅二郎博士、国立遺伝学研究所吉田満氏、原雅子氏、施設の共同利用でダイズの研究にご協力を賜った国立遺伝学研究所教授瀬野悍二博士、14 MeV中性子発生装置の共同利用で大阪大学工学部教授住田健二博士、大阪大学工学部山本淳治博士、X線発生装置の共同利用で京都大学教授池永満生博士、X線発生装置の使用で大阪大学医学部教授野村大成博士、線量測定で広島大学助教授星正治博士、熊本大学教授山下忠興博士、神戸商船大学助教授小田啓二博士、長瀬ランダウア安瀨四郎部長、イエギクの共同研究で広島大学教育学部渡邊重義氏、脇屋祥子氏より熱心な協力を頂いた。実験遂行中、終始助言と指導を頂いた鳴門教育大学助教授米澤義彦博士、広島大学助教授池田秀雄博士、大阪大学医学部梁治子氏、近畿大学原子力研究所助教授藤川和男博士に心より感謝する。また実験の実施に際しては、原子炉運転で近畿大学原子力研究所青木隆氏、久永小枝美氏、放射線生物研究室の中野茂雄、宮本利彦、森本一茂、山口貴司、鳥山憲一、森本幸弘、大森政信、笠野元宏の各氏に大変お世話になった。ここに記して御厚志に対する謝辞としたい。

引用文献

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J. D. (1989). 「細胞の分子生物学」第2版, 中村桂子, 松原謙一監修, 大隈良典, 小倉明彦, 桂勲, 丸野内棣監訳, 教育社, 東京.
- Avery, G. S., Jr. (1933). Structure and development of the tobacco leaf. *Amer. Jour. Bot.* **20**, 565-592.
- Broertjes, C. (1966). Mutation breeding of Chrysanthemums. *Euphyica* **15**, 156-162.
- Broertjes, C., Koene, P. and Van Veen, J. W. H. (1980). A mutant of a mutant of a mutant of a ... : Irradiation of progressive radiation-induced mutants in a mutation-breeding programme with *Chrysanthemum morifolium* Ram. *Euphyica* **29**, 525-530.
- Fujii, T. (1981). Mutagenic effect of L-ethionine in soybean and maize. *Environ. Expt. Bot.* **21**, 127-131.
- Fujii, T. (1982). Mutagenicity testing of chemical mutagens in higher plants. In: *Environmental Mutagens and Carcinogens*, (eds.: T. Sugimura, S. Kondo and H. Takebe), pp. 399-410. University of Tokyo Press, Tokyo.
- Fujii, T. and Mabuchi, T. (1961). Irradiation experiments with *Chrysanthemum*. *Seiken Zihō* **12**, 40-44.
- Fujii, T., Shizaki, M., Fujiki, H. and Sugimura, T. (1983). Effect of TPA on the mutagenicity of caffeine in the soybean mutation test. *Mutat. Res.* **110**, 263-269.
- Garcia-Bellido, A., Ripoll, P. and Morata, G. (1973). Developmental compartmentalisation of the wing disk of *Drosophila*. *Nature New Biol.* **245**, 251-253.

- 久永小枝美, 山下忠興, 北村功, 伊藤哲夫, 近藤宗平 (1990). 熱ルミネ
ッセンス線量計の熱中性子感受性に関する検討および熱中性子低感受性線
量計の試作. *RADIOISOTOPES* 39, 381-385.
- Hoshi, M., Takeoka, S., Tsujimura, T., Kuroda, T., Kawami, M. and
Sawada, S. (1988). Dosimetric evaluation of ^{252}Cf beam for use
in radiobiology studies at Hiroshima University. *Phys. Med.
Biol.* 33, 473-480.
- ICRU (1969). Neutron Fluence, Neutron Spectra and Kerma. *ICRU
Report 13*, International Commission on Radiation Units and
Measurements, Washington, D.C.
- 池田秀雄, 渡邊重義, 脇屋祥子, 近藤宗平, 伊藤哲夫, 森本幸弘 (1991).
核分裂中性子線またはX線の照射をうけたイエギク *Chrysanthemum mori-*
folium Ram. における花色変異体の出現様相. 近畿大学原子力研究所年報
28, 9-18.
- Ikushima, T. (1972). Relative biological effectiveness of 14.1 MeV
neutrons for somatic mutations induced in the diploid oat
seeds presoaked in water. *Jpn. J. Genet.* 47, 265-275.
- Ishii, Y. and Kondo, S. (1975). Comparative analysis of deletion and
base-change mutabilities of *Escherichia coli* B strains differing
in DNA repair capacity (*wild-type*, *uvrA*-, *polA*-, *recA*-) by
various mutagens. *Mutat. Res.* 27, 27-44.
- Itoh, T. and Kondo, S. (1991). Somatic reversion of a *Xantha*-like
gene in soybean by fast neutrons and X rays. *Jpn. J. Genet.* 66,
461-469.
- Itoh, T. and Kondo, S. (1992). Tracing development of soybean
primordia by marking progenitor cells with mutant markers.
Jpn. J. Genet. 67, 61-70.
- Kondo, S. (1964). Variation in mutagenicity and radiation resistance
with genome complexity and evolution. *Jpn. J. Genet.* 39, 176-

198.

Leenthouts, H. P. and Chadwick, K. H. (1978). The crucial role of DNA double-strand breaks in cellular radiobiological effects. *Adv. Radiat. Biol.* 7, 55-101.

MacKey, J. (1958). Mutagenic response in *Triticum* at different levels of ploidy. In, Proc. I Inter. Wheat Genet. Symp., 88-111.

松村清二 (1964). 有用突然変異の誘発と利用. 松村清二, 田島弥太郎編「放射線遺伝学」, 裳華房, 東京, 481-555.

松尾孝嶺, 山口彦之 (1964). 放射線利用による育種上の諸問題. 松村清二, 田島弥太郎編「放射線遺伝学」, 裳華房, 東京, 556-613.

西山市三 (1936). 燕麦に於ける平衡致死現象の一例. 遺伝学雑誌 12, 41-42.

Nishiyama, I. (1941). Cytogenetical studies on *Avena*. IV. Distorted Mendelian ratios due to the differential fertilization. *Jpn. J. Genet.* 17, 247-264.

Nishiyama, I., Ichikawa, S. and Amano, E. (1964). Radiobiological studies in plants. X. Mutation rate induced by ionizing radiations at the *al* locus of sand oats. *Radiat. Bot.* 4, 503-516.

Nishiyama, I., Ikushima, T. and Ichikawa, S. (1966). Radiobiological studies in plants-XI. Further studies on somatic mutations induced by X-rays at the *al* locus of diploid oats. *Radiat. Bot.* 6, 211-218.

Oda, K., Ito, M., Miyake, H., Michijima, M. and Yamamoto, J. (1988). Track formation in CR-39 detector exposed to D-T neutrons. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 35, 50-56.

Randolph, M. L. (1957). Energy deposition in tissue and similar materials by 14.1-MeV neutrons. *Radiat. Res.* 7, 47-57.

- 齊藤清 (1983). 花卉. 渡辺好郎, 山口彦之編「突然変異育種」, 養賢堂, 東京, 252-257.
- Sankaranarayanan, K. (1982). 「電離放射線の遺伝的影響—ヒトの遺伝に及ぼす危険性の評価—」, 村上昭雄, 中村典, 田野茂光編訳, サイエンスティスト社, 東京.
- Stadler, L. J. (1929). Chromosome number and the mutation rate in *Avena* and *Triticum*. *Proc. Nat. Ac. Sci. U. S.* 15, 876-881.
- Stadler, L. J. (1930). Some genetic effects of X-rays in plant. *J. Hered.* 21, 2-19.
- Sumita, K., Takahashi, A., Iida, T., Yamamoto, J., Imoto, S. and Matsuda, K. (1982). Osaka University 14 MeV intense neutron source and its utilizations for fusion studies (OKTAVIAN program). *Proc. 12th Symp. Fusion Technology*, 1, 675-680.
- Tatara, A, Baradjanegara, A. A. and Yamaguchi, H. (1991). DNA synthesis and mitosis of shoot apical meristem cells during early germination of soybean seed. *RADIOISOTOPES* 40, 418-420.
- Vig, B. K. (1973a). Somatic crossing over in *Glycine max* (L.) Merrill: Effect of some inhibitors of DNA synthesis on the induction of somatic crossing over and point mutations. *Genetics* 73, 583-596.
- Vig, B. K. (1973b). Somatic crossing over in *Glycine max* (L.) Merrill: Mutagenicity of sodium azide and lack of synergistic effect with caffeine and mitomycin C. *Genetics* 75, 265-277.
- Vig, B. K. (1973c). Mitomycin C induced leaf mosaicism in *Glycine max* (L.) Merrill in relation to the post germination age of the seed. *Theoret. Appl. Genet.* 43, 27-30.
- Vig, B. K. (1974). Somatic crossing-over in *Glycine max* (L.) Merrill: Differential response to ^3H -emitted β -particles and ^{60}Co

- emitted γ -rays. *Radiat. Bot.* **14**, 127-137.
- Vig, B. K. (1975). Soybean (*Glycine max*): A new test system for study of genetic parameters as affected by environmental mutagens. *Mutat. Res.* **31**, 49-56.
- Vig, B. K. (1978). Somatic mosaicism in plants with special reference to somatic crossing over. *Environ. Health Perspect.* **27**, 27-36.
- Vig, B. K., Nilan, R. A. and Arenaz, P. (1976). Somatic crossing over in *Glycine max* (L.) Merrill: Induction of somatic crossing over and specific locus mutations by methyl methanesulfonate. *Environ. Exp. Bot.* **16**, 223-234.
- Vig, B. K. and Paddock, E. F. (1968). Alteration by mitomycin C of spot frequencies in soybean leaves. *J. Heredity* **59**, 225-229.
- Wareing, P. F. and Phillips, I. D. J. (1981). *Growth and Differentiation in Plants*, 3rd ed., Pergamon, Oxford.
- Weber, C. R. and Weiss, M. G. (1959). Chlorophyll mutant in soybeans provides teaching aid. *J. Heredity* **50**, 53-54.
- Yamamoto, J., Takahashi, A., Izumi, M. and Sumita, K. (1989). Determination of tritium breeding ratio in a Pb-Li spherical Blanket by leakage neutron spectra. *Fusion Engineering and Design* **10**, 169-174.
- Wareing, P. F. and Phillips, I. D. J. (1981). 「植物の成長と分化 (上)」第3版, 古谷雅樹監訳, 学会出版センター, 東京.
- 安淵四郎, 星正治, 伊藤哲夫, 久永小枝美, 丹羽健夫, 三木良太, 近藤宗平 (1989). プラスチック飛跡検出器TS16Nによる極低出力原子炉内速中性子のドシメトリ. *RADIOISOTOPES* **38**, 359-365.